SERIE E

N° d'ordre : 79

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Michel HASSELMANN

Chef de travaux à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Ire THÈSE : Modifications du Spectre ultraviolet de Molécules organiques pendant l'excitation de leur Fluorescence

IIe THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 3 Juillet 1945
devant la Commission d'Examen

MM. OLLIVIER ..... Président
G. FOEX ..... } Examinateurs
R. ROMANN ..... } Examinateurs
Ch. LAPP ..... } Examinateurs

1945

HASSELMANN Michel

Modifications du Spectre ultraviolet de Molécules organiques pendant l'excitation de leur fluorescence.

Thèse ronéotypée.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg

Série E - N° 79 (3 juillet 1945)

HASSELMANN Michel

Modifications du Spectre ultraviolet de Molécules organiques pendant l'excitation de leur fluorescence.

Thèse ronéotypée.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg

Série E - N° 79 (3 juillet 1945)

HASSELMANN Michel

Modifications du Spectre ultraviolet de Molécules organiques pendant l'excitation de leur fluorescence.

Thèse ronéotypée.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg

Série E - N° 79 (3 juillet 1945)

HASSELMANN Michel

Modifications du Spectre ultraviolet de Molécules organiques pendant l'excitation de leur fluorescence.

Thèse ronéotypée.

Doct. Univ. Pharm. Strasbourg

Série E - N° 79 (3 juillet 1945)

S

NCES

BOURG

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Michel HASSELMANN

Chef de travaux à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Ire THÈSE : Modifications du Spectre ultraviolet de Molécules organiques pendant l'excitation de leur Fluorescence

IIe THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 3 Juillet 1945

devant la Commission d'Examen

MM. OLLIVIER ..... Président

G. FOEX .....

R. ROMANN ..... } Examinateurs

Ch. LAPP .....

1945

SÉRIE E

N° d'ordre : 79

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES PHYSIQUES

PAR

Michel HASSELMANN

Chef de travaux à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

BIBLIOTHÈQUE

I^re^ THÈSE : Modifications du Spectre ultraviolet de Molécules organiques pendant l'excitation de leur Fluorescence

II^e^ THÈSE : Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 3 Juillet 1945

devant la Commission d'Examen

MM. OLLIVIER ..... Président

G. FOEX .....

R. ROMANN ..... Examinateurs

Ch. LAPP .....

1945

FACULTE DES SCIENCES DE L'UNIVERSITE DE STRASBOURG

Doyen :

M. A.DANJON, professeur d'Astronomie

Doyen Honoraire :

E. BATAILLON

Professeurs Honoraires :

E.CHATTON, E.ESCLANGON, M.FRECHET, H.GAULT, M.GIGNOUX, L.HACKSPILL, E.DE MARGERIE, G.RIBAUD, E.THIRY, E.TOPSENT, G.VALIRON, H.VILLAT

Professeurs :

H. OLLIVIER	Physique Générale
E. TERROINE	Physiologie Générale
J. de LAPPARENT	Minéralogie et Pétrographie
G. CERF	Analyse Supérieure
G. DUBOIS	Géologie et Paléontologie
P. de BEAUCHAMP	Zoologie et Anatomie Comparée
L. BOUNOURE	Biologie Générale
R. ROMANN	Chimie Générale et Chimie Physiq.
G. FOEX	Physique Expérimentale
A. KIRRMANN	Chimie Organique
H. WEISS	Physico-Chimie des Hydrocarbures
L. NEEL	Physique Générale
G. HUGEL	Chimie du Pétrole
R. HOCART	Minéralogie
A. ROUSSEL	Calcul Différentiel et Intégral et théorie des fonctions
J.MARESQUELLE	Biologie Végétale
Ch. EHRESMANN	Topologie
R. BONNET	Physique et Chimie Biologique
H. FORESTIER	Chimie
Ch. SADRON	Physique Générale
J. YVON	Physique Mathématique
N.	Mécanique Rationnelle
N.	Chimie Générale
N.	Physique du Globe

Maîtres de Conférences :

J. ROTHE	Physique du Globe
Ph. L'HERITIER	Zoologie
L. CAGNIARD	Physique du Globe
A. HEE	Botanique
E. WOLFF	Biologie Générale
Cl. CHABAUTY	Mathématiques Générales
A. LICHNEROWICZ	Mathématiques
N.	Chimie Appliquée
N.	Chimie Minérale

Secrétaire :

E. MARANDON

MODIFICATIONS DU SPECTRE ULTRAVIOLET DE MOLECULES ORGANIQUES PENDANT L'EXCITATION DE LEUR FLUORESCENCE.

par

Michel HASSELMANN

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR Charles LAPP

en témoignage de ma profonde
reconnaissance.

AUX MEMBRES DE MON JURY

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE PHARMACIE
ET DE LA FACULTE DES SCIENCES DE STRASBOURG

A MA FEMME

A MES PARENTS

PREMIERE PARTIE

GENERALITES

CHAPITRE I.- THEORIES DE L'ABSORPTION

INTRODUCTION

Que ce soit dans le domaine des rayons infra-rouges, dans celui des radiations visibles, ou dans la zône des radiations ultra-violettes, les spectres d'absorption sont obtenus en interposant entre la source et le spectrographe la substance absorbante. Si l'absorption est due à des atomes, ou des ions, ce qui est le cas, le plus souvent, pour les gaz et les vapeurs, on observe, en général, des spectres formés de raies. Mais lorsqu'on a affaire à des molécules, éventualité beaucoup plus fréquente, puisqu'il s'agit de liquides, de solutions, de vapeurs organiques, les spectres de raies pures d'absorption sont remplacés par des spectres de bandes. On distingue différentes sortes de bandes : fines, étroites, larges: en général les liquides et les solutions présentent des bandes larges (100 mμ) cependant pour les solutions aqueuses de permanganate de potassium par exemple, on observe des bandes étroites (5 à 10 mμ); le Pyrène avec des bandes fines de 1 mμ de large constitue une rareté. Les vapeurs organiques donnent des spectres plus riches en bandes que les liquides qui leur correspondent; leurs spectres comportent surtout des bandes étroites, et même des bandes très fines qu'on pourrait presque assimiler à des raies.

Théorie électro-magnétique.

Avant que la théorie quantique ne fasse son apparition, la théorie de l'absorption reposait sur des hypothèses découlant de la théorie électro-magnétique de la lumière. Au lieu d'envisager, avec SELMEIER et HELMHOLTZ, les atomes comme formant des centres de vibration après le passage de l'onde

lumineuse, la théorie électro-magnétique considère les électrons qui, sous l'influence d'une force électrique rapidement oscillante comme la lumière, vont se mettre en mouvement, oscillant autour de positions d'équilibres fixes par rapport aux molécules auxquelles ils appartiennent; ces électrons se mettant en résonance, sont les agents de l'absorption des radiations de période identique à la leur; l'énergie absorbée est dissipée par suite du frottement de l'électron, à moins qu'elle ne soit dépensée en transformations chimiques; ou bien elle serait diffusée dans toutes les directions par l'électron vibrant, sous forme d'ondes de même période que celles qui sont absorbées. Ce dernier phénomène qui a été observé pour quelques gaz (vapeur de sodium par exemple) serait, d'après PLANCK, la seule cause d'amortissement de la vibration des électrons.

Ce mécanisme de la propagation et de l'absorption de la lumière dans la matière tel que le décrit la théorie classique électromagnétique a été approfondi par la suite dans de nombreux travaux qui montrent comment chaque résonateur qui a été mis en mouvement avec une période égale à celle de l'onde lumineuse, devient la source d'une onde élémentaire; en tous points du corps ou de l'espace environnant, on peut former la somme géométrique de tous les mouvements électromagnétiques élémentaires émis par ces résonateurs, tout en ajoutant le champ de l'onde incidente partout où celle-ci est présente; il est alors démontré que le champ intégral est décomposable en quatre parties : une onde réfractée se propageant dans le corps, une onde réfléchie, des ondes diffractées et des ondes diffusées. Or la diffusion de la lumière dans les gaz est due aux fluctuations de densité accompagnant l'agitation moléculaire et il ressort des calculs de LUNDBLAD (66) que cette diffusion est généralement faible, à l'exception des ondes dont la fréquence coincide avec celle des vibrations propres des résonateurs. Des ondes qui sont en désaccord avec les vibrations propres du corps y sont propagées sans affaiblissement notable à condition que ce corps ne présente pas une

hétérogénéité marquante - remarquons que l'hétérogénéité qui provient des fluctuations de densité à cause du mouvement moléculaire doit être considérée comme faible.

D'autre part, si dans l'hypothèse de BIALOBJESKI (5),on admet que l'absorption vraie, telle qu'il la propose, consiste en ce que la transformation de l'énergie de radiation en chaleur s'accomplit par l'intermédiaire des pressions exercées par les ondes diffusées intérieures sur les molécules du corps, (il s'agit de la pression de MAXWELL qu'une onde électromagnétique exerce sur un corps ou sur une molécule neutre), il se trouve que la radiation correspondant à la résonance exerce sur les molécules une pression relativement énorme dépassant en approximation grossière plusieurs dizaines de millions de fois celles des radiations voisines sur l'échelle des longueurs d'onde, radiations qui sont, elles,discordantes.

Ainsi, conformément aux vues de BIALOBJESKI, l'absorption vraie comprend deux phases : des ondes lumineuses sont d'abord diffusées intérieurement, ensuite, il se produit une transformation de leur énergie en chaleur, grâce au travail des pressions exercées par les ondes diffusées sur les molécules du corps absorbant. C'est la première phase seulement qui compte pour la loi d'absorption, car l'énergie des ondes diffusées est perdue pour la radiation propagée régulièrement, cette énergie étant proportionnelle à l'intensité de la radiation incidente, en accord avec la loi exponentielle de l'absorption.

D'après la théorie de la propagation des ondes électromagnétiques, il faut distinguer dans un milieu cristallin deux types de vibrations :
1) il y a d'abord les vibrations des atomes pourvus d'une charge électrique, autour de leur position d'équilibre, vibrations qui correspondent à la partie infra-rouge du spectre; c'est la force électrique de l'onde incidente qui produit sur ces atomes chargés une action mécanique qui les met en état de mouvement vibratoire; des deux parties de l'énergie de vibration, seule celle qui a un caractère désordonné et qui constitue l'énergie calorifique est perdue pour la radiation propagée.

2) il y a ensuite les vibrations des électrons superficiels des atomes auxquels correspond la partie ultra-violette du spectre; la pression des ondes qui excitent ces vibrations serait analogue à celle éprouvée par les molécules neutres gazeuses et le mécanisme de l'absorption vraie resterait le même.

Pour les métaux, à côté d'une absorption générale, il y aurait également une absorption sélective, due à l'existence d'électrons attachés à l'atome et ayant des vibrations propres dans la région du spectre voisine des radiations visibles; l'existence d'électrons, soit tout à fait indépendants, soit faiblement attachés aux atomes est responsable de l'absorption générale; le champ électrique agit sur l'électron par une force mécanique qui le met en vibration après l'avoir détaché de l'atome s'il y avait entre les deux un lien lâche : l'énergie acquise par ces électrons est communiquée aux atomes par l'intermédiaire de chocs, mécanisme qui explique la transformation de la radiation en chaleur.

Tout ce qui s'applique aux métaux solides est vrai pour les métaux liquéfiés.

Quant aux liquides le mécanisme de l'absorption vraie serait le même qu'à l'état gazeux avec, pour certains liquides comme l'eau et les alcools, une augmentation de la diffusion qui peut provenir de l'association des molécules.

Théorie quantique - Cas général.

La théorie quantique de l'absorption se calque sur la théorie de l'émission, dont elle est la réciproque. En effet, dans le cas de l'émission, en se référant à la représentation schématique de l'atome par RUTHERFORD, développée ensuite par BOHR, on sait que sous une certaine influence un électron peut tomber d'une trajectoire donnée sur une autre trajectoire plus centrale. Ces deux trajectoires correspondent à des niveaux d'énergie différents; comme le saut de l'électron se fait vers le centre il perd une certaine énergie qui, constituant un excédent entre les deux états considérés, s'en

va sous forme de radiations de fréquence ν telle que

$$W_1 - W_2 = h\nu$$

W_1 = énergie initiale, W_2 = énergie finale, h = constante universelle. Dans cette expression ν est parfaitement déterminé puisque l'énergie correspond à un quantum entier.

Ainsi, pour l'absorption, l'atome va absorber de l'énergie qui sera utilisée à déplacer les électrons et les amener à des niveaux d'énergie plus élevés, donc sur des trajectoires plus extérieures. Dans le cas de l'atome d'hydrogène, par exemple, qui possède autour du noyau central une cinquantaine de trajectoires concentriques, lesquelles représentent par rapport au noyau des niveaux d'énergie de plus en plus élevés au fur et à mesure qu'on se dirige vers l'extérieur, chaque chute d'électron d'un niveau sur un autre sera à l'origine de l'absorption d'une radiation dans le cas de l'absorption. Dans les deux spectres on notera ainsi les mêmes séries de raies série de BALMER, qui correspond aux chutes des électrons des différents orbites sur l'orbite No 2 en partant du noyau (émission), ou au saut des électrons à partir de l'orbite No 2 sur les autres trajectoires (absorption). Aux orbites Nos 1, 3, 4, 5 correspondent respectivement les séries de LYMANN, RITZPASCHEN, BRACKETT, PFUND. Mais l'énergie peut être aussi suffisante pour projeter l'électron en de dehors du champ d'attraction du noyau : l'atome s'ionise. De plus certaines raies, dites de transition, proviennent du passage d'un niveau d'une série, à un niveau d'une autre série. Ce cas est illustré par la raie D du sodium.

Lorsque l'atome devient plus complexe, du fait que plusieurs électrons sont capables d'exécuter des sauts quantiques, le spectre se complique beaucoup par l'intrication de nombreuses raies.

Lorsque ce sont des molécules qui sont responsables de l'absorption, l'action de refoulement des électrons vers les couches extérieures ne consomme pas toute l'énergie reçue par la molécule. En effet le phénomène se complique car l'énergie reçue peut être également employée à perturber les

rapports des atomes composant la molécule, de même qu'à provoquer des rotations de la molécule toute entière autour d'elle-même. Selon V.HENRI si le corps absorbant est une molécule, l'énergie W absorbée par lui se divisera en trois termes tels que

$$W = W_e + W_v + W_2$$

ou W_e = énergie électronique
W_v = énergie de vibration des atomes dans la molécule
W_2 = énergie de rotation de la molécule

Ces trois termes quantifiés ou non peuvent ne pas exister tous les trois ensemble : l'énergie reçue par la molécule peut être utilisée à la faire tourner ou bien à la faire tourner et faire vibrer les atomes sans atteindre les électrons.

Lorsque les trois termes seront quantifiés, l'expression ci-dessus pourra s'écrire

$$W = h (\nu_e + \nu_v + \nu_2).$$

A chacune des trois énergies correspondra un système de bandes; les unes relatives à l'absorption électronique, les autres à l'absorption de vibration et les dernières à l'absorption de rotation. Lorsqu'une des énergies de rotation ou de vibration, ou les deux, ne sont plus quantifiées, les bandes qui étaient bien délimitées sont alors remplacées par de larges bandes diffuses. L'énergie électronique cesse également d'être quantifiée quand l'énergie absorbée dépasse l'énergie capable de dissocier l'atome; c'est pourquoi on observe toujours au bout de séries de raies résolubles une zône d'absorption continue.

Les trois énergies n'ont pas la même valeur : l'énergie suffisante pour la rotation de la molécule est toujours inférieure à l'énergie de vibration des atomes dans la molécule; et ces deux énergies sont, elles-mêmes, inférieures à l'énergie électronique. Les raies correspondant à ces trois sortes d'énergie sont donc réparties différemment dans le

spectre quoique leurs domaines aient la possibilité d'empiéter les uns sur les autres.

On a ainsi : 1) les raies de rotation pure dans l'infra-rouge éloigné et moyen, toutes équidistantes

$$\nu = 2\,B\,(n + 1)$$

2) les termes de rotation-vibration. Les raies de rotation sont réparties dans les bandes de vibration. Pour celles-ci les têtes de bandes forment une série dont la loi de DESLANDRES fournit la distribution

$$\nu = \nu_o + An + Bn_2.$$

Les termes de rotation à l'intérieur de ces bandes sont réparties suivant 3 séries P, Q, R

$$\nu_P = \nu_o + 2\,Bn + Cn_2$$
$$\nu_Q = \nu_o + Cn + Cn_2$$
$$\nu_R = \nu_o - 2\,Bn + Cn_2$$

Le domaine des termes de rotation-vibration est le proche infra-rouge, le visible et le proche ultra-violet.

3) Enfin les termes électroniques forment des séries analogues à la série de BALMER et sont réparties dans la zône du spectre s'étendant dans l'ultra-violet suivant l'inverse du carré des nombres entiers successifs.

$$\nu = \frac{A}{n_2}$$

Les lettres A, B, C représentent dans les expressions ci-dessus des constantes caractéristiques de la molécule considérée. n peut être remplacé par les nombres entiers successifs.

Par ce qui précède, on voit qu'il est possible de résoudre un spectre en formules; dont on peut tirer lorsque la molécule n'est pas trop compliquée, le moment d'inertie, l'angle des valences etc... toutes valeurs qui permettent d'en représenter la constitution moléculaire. Mais le champ

d'investigations est plûtot restreint. En effet ces spectres à structure fine sont le propre des vapeurs presque exclusivement, et encore parmi les vapeurs, les spectres de molécules trop compliquées ne permettent plus des considérations théoriques.

Théorie quantique - Cas des liquides et des solutions.

Si l'on passe de l'état vapeur à l'état liquide, ou lorsqu'on se trouve dans le cas des solutions, le mouvement des molécules est gêné, soit par suite de la diminution des distances qui les séparent dans le cas du passage de l'état vapeur à l'état liquide, soit à cause de la présence des molécules du solvant dans le cas des solutions. Les rotations régulières quantifiables ne semblent plus avoir lieu et les bandes d'oscillation ne sont plus en général résolues en raies fines. On observe alors les deux types de bandes d'absorption suivants :

1) bandes étroites (5 à 10 mμ) en système le plus souvent. Ce type est assez rare.

2) bandes larges seules, ou plus ou moins irrégulièrement isolées. Ce type est plus général.

Alors que dans le cas des vapeurs l'étude du spectre d'absorption donne, comme on l'a vu plus haut, dans des cas relativement peu nombreux, des renseignements précis sur la structure des molécules envisagées, par suite de la possibilité de considérations théoriques, dans le cas beaucoup plus général des solutions et des liquides, et même aussi des vapeurs de molécules compliquées, le spectre d'absorption du fait de sa structure nouvelle ne peut plus être utilisé qu'empiriquement.

Du spectre de l'aldéhyde formique vapeur, par exemple, il est possible de tirer, grâce à sa structure fine, des éléments qui nous permettent de nous représenter la forme de la molécule vapeur. En passant à l'état liquide, on assiste à une fusion des raies en bandes plus ou moins larges

suivant les endroits du spectre; cette configuration ne permet pas d'aboutir à des conclusions précises sur la forme de la molécule d'aldéhyde formique liquide. On peut tout au plus penser que les formes de la molécule vapeur et de la molécule liquide ne sont plus les mêmes. Notons en passant, que les bandes sont décalées vers le rouge par rapport aux groupes de raies dont elles sont issues; cela semble être le cas général, comme l'a noté SESHAN (86) dans l'étude du spectre ultra-violet de substances de la série aromatique, pour lesquelles le système de bandes se déplace en bloc vers le rouge quand on passe de la vapeur aux solutions, au liquide, puis au solide, l'ampleur du déplacement croissant avec l'indice de réfrac tion du milieu.

CHAPITRE II.-

SPECTRE D'ABSORPTION ULTRA-VIOLETS DE MOLECULES EN SOLUTION

Notions sur les chromophores

Consécutivement à un nombre considérable de recherches systématiques on a pu établir pour des molécules compliquées des correspondances entre les bandes d'absorption de leur spectre et des groupements moléculaires déterminés qui les composent; ces groupements ont reçu le nom de chromophore,par extension à toutes les radiations d'un terme qui, primitivement, était l'apanage des groupements moléculaires support de couleurs. On a ainsi pu préciser un certain nombre de chromophores tels que : $=CH_2$ (liaison éthylénique), le noyau benzénique, =C=O, -COOH, $-NO_2$, - NH_2.

On pourrait donc penser, dans le cas le plus simple où la molécule ne contiendrait qu'un seul groupement chromophore à une identification rapide de la bande correspondante; malheureusement il n'en est pas toujours ainsi; cette correspon-

dance n'est pas rigoureuse et le plus souvent, soit à cause du pH de la solution, de la nature du solvant, soit en raison de la position stéréochimique du groupement chromophore ou de son mode de liaison dans la molécule, la bande dont il est le support peut subir d'importantes modifications, et dans sa position dans l'échelle des longueurs d'ondes, et dans l'intensité de son pouvoir absorbant.

Il n'est donc pas surprenant que le problème moins simple qu'on aurait pu le croire a priori pour un seul chromophore devienne beaucoup plus ardu lorsque la molécule abrite deux chromophores et à plus forte raison trois et plus.

D'après V.HENRI (39) " lorsque la molécule d'un corps contient deux groupes chromophores, ce corps possède les bandes d'absorption caractéristiques de ces chromophores; si ces groupes sont voisins dans la molécule, la position des bandes est déplacée vers le rouge, l'intensité de l'absorption n'étant que faiblement modifiée; si ces chromophores sont éloignés l'un de l'autre dans la molécule, la position des bandes n'est pas modifiée, mais la valeur de l'absorption est augmentée ". Des recherches faites ultérieurement par Mme RAMART-LUCAS en collaboration avec HOCH (45), avec LALANNE (55) et avec Mlle AMAGAT (3) ont conduit ces auteurs à des conclusions différentes sur certains points de celle de V.HENRI; en effet dans le cas du glyoxal, du diacetyle, du styrolène, de l'acroléine, etc... où les chromophores sont liés directement le spectre de la molécule est totalement différent de celui que donnerait la superposition des spectres de chaque chromophore; de plus dans quelques cas l'augmentation de l'absorption est considérable. On reconnaît à nouveau les bandes correspondant à chaque chromophore si ceux-ci ont des bandes sélectives, à partir du moment où ceux-ci sont séparés par un ou plusieurs atomes de carbone; en résumé l'influence mutuelle des chromophores tend à devenir négligeable à partir de l'instant où ceux-ci sont siffisamment éloignés dans la molécule.

Une explication a été donnée à ces faits par R.LUCAS (65): cet auteur prenant comme base la théorie électromagnétique de l'absorption, assimile les chromophores à des vibrateurs doués d'une fréquence propre; lorsque deux vibrateurs de fréquence différente sont dans le voisinage l'un de l'autre, il y a couplage en eux et modification de leur fréquence; cet effet se fera de moins en moins sentir au fur et à mesure qu'ils seront plus éloignés l'un de l'autre. G.ALLARD (2) transpose ces vues dans la théorie quantique et arrive aux mêmes conclusions que R.LUCAS, en précisant que la variation de fréquence est proportionnelle au cube de la distance qui sépare les deux chromophores.

Réciproquement des essais de calculs de spectres de molécules à deux chromophores ont été tentés à partir des bandes supports des chromophores. C'est ainsi que V.HENRI (40) pense pouvoir calculer au moyen de deux constantes empiriques la courbe d'absorption d'un composé contenant deux chromophores, et ajoute même " qu'il est facile de prévoir les spectres d'absorption de plusieurs milliers de corps différents ". Citons également l'emploi par F.VLES (94) d'une fonction Ψ telle que $\Psi = \frac{1}{\lambda} \log M$ où λ est la longueur d'onde de la bande et M le poids moléculaire du groupement. Divers essais de cet auteur ont montré si l'on choisit convenablement les chromophores, que dans un certain nombre de cas on peut vérifier l'expression

$$\frac{\lambda_x}{\lambda_y} = \frac{\lambda_{xo}}{\lambda_{yo}} \frac{\log M_{yo}}{\log M_{xo}}$$

où λ_x et λ_y sont des longueurs d'onde des bandes représentatives de deux chromophores x et y dans le spectre total, et λ_{xo} et λ_{yo} celles attribuées aux chromophores pris séparément F.VLES peut ainsi prévoir les bandes de l'anisole et de la vanilline (95) et Mlle SCHUHLER (85) celles de la colchicine.

Toutes ces méthodes sont d'un emploi restreint malgré leur apparente simplicité. La fonction de F.VLES, de l'aveu de son auteur, n'est pas susceptible d'être généralisée, et

la méthode de V.HENRI se limite le plus souvent, dans les cas choisis pour l'illustrer, à une petite partie du spectre mesuré.

Quand les molécules se compliquent au point où le nombre des chromophores est égal ou supérieur à trois, s'il est possible de s'en rendre compte, par des analogies et des recoupements on peut encore dans quelques cas attribuer á tel ou tel chromophore, telle ou telle bande du spectre : HENEIN (38) effectue une décomposition graphique du spectre de l'alloxane en plusieurs bandes qui doivent être attribuées à des constituants distincts de la molécule. De même le spectre de l'oxyhémoglobine (96), par exemple, s'étendant entre l'ultra-violet éloigné et l'infra-rouge compris, permet de réaliser une "séparation" de la combinaison globine (histidine, leucine etc.) d'avec l'hématine.

Nous en arrivons enfin à des cas plus particuliers : l'isomérie cis-trans et la cyclisation.

Isomérie - cis-trans.

Pour ce qui concerne l'isomérie cis-trans, à la suite de l'étude des acides maléique, fumarique, citraconique, et mésaconique V.HENRI et ERRERA (42, 43) énoncent une règle selon laquelle le dérivé trans absorbe toujours plus que le dérivé cis. Cette règle n'a pu être retenue. Des exemples nombreux donnés par HOCH (46), BRUYLANTS (15), CASTILLE (16) contredisent cet énoncé. Il résulte qu'on doit se contenter de noter que les isomères cis et trans n'absorbent pas les mêmes régions, que ceci constitue un moyen de les différencier donc d'apporter malgré tout d'utiles indications.

Cyclisation.

La cyclisation a un certain retentissement sur le spectre. HARTLEY indique l'effet bathochrome provoqué par la cyclisation. Par la suite MARTINET (67) affirme que "la cyclisation a un effet hypsochrome lorsque le chromophore devient endocyclique et bathochrome lorsqu'il devient semi-cyclique". Mais

les travaux plus récents de Mme RAMART-LUCAS (82) ont montré que l'importance et le sens du phénomène dépendent uniquement de la déformation des angles valentiels conditionnés par le nombre d'atomes qui forment le cycle, ainsi que de la nature et de la position respective des chromophores avant et après la cyclisation.

Conclusion.- L'influence des deux facteurs extérieurs, pH et nature du solvant utilisé retiendront notre attention dans les chapitres ultérieurs.

Des faits que nous venons brièvement d'exposer, il ressort que l'absorption ultra-violette offre aux chercheurs un champ immense d'investigations. Les résultats obtenus par la confrontation des spectres avec les molécules dont ils illustrent la construction, faute d'avoir pu les encadrer par des lois ou des règles, sont cependant importants et ont permis un progrès considérable dans la connaissance de la structure moléculaire.

CHAPITRE III.- THEORIES DE LA FLUORESCENCE

Généralités.

Dans les spectres de fluorescence, la lumière de la source principale n'est plus observée directement, mais on recueille les radiations émises par le corps éclairé par une source intense, par exemple une lampe à arc, ou une lampe à vapeur de mercure (on trouvera un montage spectographique pour l'étude de la fluorescence dans la thèse de A.ANDANT (4)). On a intérêt, pour obtenir des fluorescences intenses, à utiliser une lumière excitatrice intense, car selon la loi de KNOBLAUCH (52) la lumière de fluorescence a une intensité proportionnelle à celle de la lumière excitatrice. La zône de radiation dans laquelle s'observent les spectres de fluorescence est limitée à la région ultra-violette moyenne et à la

région du visible; la fluorescence n'a jamais été observée dans l'infra-rouge. La forme des spectres de fluorescence est comparable à celle des spectres d'absorption : pour les gaz et les vapeurs les spectres peuvent être formés soit de raies, soit de bandes résolubles en raies; pour les solutions les spectres sont formés de bandes larges et diffuses, mais ont aussi souvent une structure de bandes multiples plus ou moins étroites, comme pour le benzène par exemple. V.HENRI, étudiant la vapeur de benzène (41), LEWSCHIN (59) s'adressant à certains colorants comme la rhodamine 6 G, les dérivés sodiques de la tétraiodofluorescéine et la rhoduline orange NO ont montré la ressemblance "en miroir" des bandes d'absorption et des bandes du spectre de fluorescence relatives à ces corps.

A l'instar de ce que nous avons constaté pour l'absorption et quoiqu'il ait été possible de préciser aussi des fonctions fluorogènes comme -N = O, N = N, etc..., il est impossible de donner des lois reliant une fonction chimique donnée à son spectre de fluorescence, à part quelques cas spéciaux. On peut cependant tirer parti de la connaissance de certains groupements que par analogie avec les groupements chromophores supports des bandes d'absorption, on a nommé fluorophore lorsqu'ils sont support d'une bande de fluorescence. On trouvera les principaux de ces groupements en se reportant aux publications de R.MEYER (71, 72) que nous mentionnons dans notre index bibliographique. Divers radicaux, $-NH_2$, -OH, $-OCH_3$, introduits dans la molécule fluorescente provoquent un accroissement de la fluorescence, d'autres comme -COOH la diminuent, d'autres enfin comme $-NO_2$ la suppriment.

Théorie électro-magnétique.

La théorie électro-magnétique dont nous avons donné les grandes lignes à propos de l'absorption est dans l'impossibilité d'expliquer l'émission par les molécules d'une substance fluorescente de radiations de fréquence différente et presque toujours plus petite que celle absorbée par cette même substance. Elle ne rend compte que de la résonnance optique, réservée seulement à certaines vapeurs, et qui consiste en la

réémission d'une radiation de même longueur d'onde que la radiation excitatrice (voir page 7) WOOD (113) en conclut qu' " il semble bien que la simple conception de vibrations forcées soit insuffisante et qu'il faille recourir à l'hypothèse de quelques processus chimique inconnu ", montrant ainsi que le problème n'a pu être élucidé.

Théorie quantique.

En fait, la conception quantique que la fluorescence repose sur deux états distincts, - d'énergie différente -, de la molécule fluorescente, entre lesquels s'opèrent des transformations discontinues. La molécule normale sous l'influence d'un rayonnement passe par l'état activé, état dans lequel la molécule possède une énergie bien plus grande qu'à l'état normal (confère théorie de l'absorption). Ces molécules activées peuvent revenir à un instant quelconque à leur état normal en réémettant de la lumière qui constitue la lumière de fluorescence. La durée de l'opération est excessivement courte à tel point qu'à l'observation directe la fluorescence ne paraît durer que le temps où la substance a été éclairée; en réalité cette durée de vie de l'activation a pu être mesurée avec précision par F.PERRIN (75) : en moyenne 10^{-7} à 10^{-8} secondes pour les gaz, 10^{-8} à 10^{-9} secondes pour les solutions.

Les oscillations en haute fréquence et l'emploi des ultra-sons ont permis de contrôler les deux lois fondamentales de la constance de la durée de l'activation quel que soit le mode d'excitation, et de l'augmentation de la durée avec celle du rendement de fluorescence.

Deux cas sont à considérer : 1) les lumières absorbées et émises, correspondant respectivement à l'activation et à la désactivation sont de même fréquence. C'est le cas de la résonance optique : un atome soumis au rayonnement excitateur subit de temps en temps une transformation momentanée par suite de l'absorption d'un quantum de lumière (photon) de fréquence ν avec sa réémission au bout d'un certain temps extrêmement court avec la même fréquence ν .

2) La lumière réémise n'a pas la même fréquence que la lumière absorbée. L'explication de ce fait est donnée suivant le schéma classique suivant :

M molécule à l'état neutre, reçoit un photon, passe à l'état activé m_1

$$M + h\nu_1 \longrightarrow m_1.$$

De m_1, elle passe à un état activé m_2 avec perte d'énergie E_1 soit calorifique, soit cinétique; cette énergie est utilisée dans l'oscillation des atomes dans la molécule et parfois aussi dans les mouvements de rotation de l'ensemble; ces mouvements ne seront pas quantifiés dans un liquide et au lieu de former dans le spectre une suite discontinue, forment en général une suite continue; dans les liquides les oscillations sont très vite amorties et se communiquent aux molécules voisines du solvant, en produisant ainsi un léger échauffement.

De m_2, la molécule revient à un état M', en émettant une lumière de fluorescence dont l'énergie est plus faible que celle de la radiation excitatrice

$$m_2 \longrightarrow M' + h\nu_2.$$

L'état M' n'est pas l'état normal. Dans une dernière transformation, la molécule revient à son état initial avec émission d'énergie E_2, qui sera utilisée de la même manière que E_1

$$M' \longrightarrow M + E_2.$$

On peut tirer de ce schéma la relation

$$h\nu, - h\nu_2 \longrightarrow E_1 + E_2$$

qui rend compte de la différence des fréquences existant entre la lumière absorbée et réémise, confirmant ce qu'énonçait STOKES à savoir que la lumière de fluorescence a une longueur d'onde plus grande que la lumière excitatrice. En réalité nous verrons plus loin que cette règle souffre des exceptions qui n'enlèvent rien au sens général de la théorie.

Transferts d'activation.

Sur la base de cette conception schématique de l'activation, certains problèmes ne trouvent pas de solution, à moins de lui adjoindre des hypothèses nouvelles. Comment expliquer, par exemple, la décroissance du pouvoir fluorescent quand la concentration augmente, et surtout comment rendre compte du mécanisme de l'inhibition de la fluorescence ?

On peut donner une réponse à la première question en admettant l'existence d'un transfert d'activation ou désactivation induite. Quand la concentration augmente, on peut penser à la probabilité plus grande qu'une molécule activée peut avoir à se désactiver sans émission de fluorescences lorsque dans son voisinage se trouve une molécule ordinaire de même espèce avec laquelle elle peut entrer en résonance. On assimile ainsi les molécules excitées à des oscillateurs électromagnétiques. Comme l'énergie disponible doit apparaître sous forme d'énergie cinétique, laquelle est communiquée aux deux molécules par une sorte de percussion répulsive, cela expliquerait la décroissance du pouvoir fluorescent avec la concentration.

Cette notion de transfert d'activation peut être étendue et s'appliquer à des molécules chimiques différentes à condition que celles-ci soient en résonance, ce qui est réalisé lorsque les fréquences d'activation sont peu différentes : J.PERRIN (77) a constaté que l'introduction dans une solution d'une substance fluorescente, d'une matière colorante ayant une bande d'absorption voisine, diminue le pouvoir fluorescent spécifique de la lumière. Enfin les transferts d'activation peuvent se produire à l'intérieur d'une même molécule et donner lieu à des fluorescences sensibilisées internes, ce qui expliquerait qu'une même bande d'émission puisse être excitée par plusieurs bandes d'absorption (F.PERRIN (75)). Il n'a pas encore été possible de préciser d'une façon nette, le mécanisme de l'inhibition de la fluorescence. Il ne semble pas,

en effet, que l'on possède aujourd'hui de théorie nette de l'inhibition de la fluorescence, comparable à la théorie de l'émission par les molécules activées. Nous ferons le point de cette importante question dans un chapitre spécial.

Hypothèse de WATERS.

Signalons, parce qu'elle s'écarte des conceptions généralement admises, l'hypothèse de WATERS (108) selon laquelle l'émission de la fluorescence est en rapport avec la reformation des liaisons de valence stables à partir de molécules au préalable activées; dans le cas de molécules diatomiques, il s'agirait de la recombinaison des atomes neutres libres en molécules; dans le cas de molécules plus complexes, il s'agirait de la dissociation d'une liaison covalente en radicaux neutres libres, suivie de la recombinaison de ces radicaux.

Pouvoir fluorescent.

Au point de vue quantitatif une solution fluorescente est définie par l'intensité de la fluorescence et par son rendement lumineux. Une grandeur proposée par J.PERRIN (76) qui caractérise une substance donnant des solutions fluorescentes est le pouvoir fluorescent. Si on considère un élément de volume assez petit pour que le flux excitateur $\mathcal{J}$ y soi uniforme, le flux de fluorescence $d\mathcal{F}$ émis par l'élément est proportionnel à $\mathcal{J}$ et au volume considéré

$$d\mathcal{F} = \mathcal{J} \varphi \, d\sigma$$

où φ est un coefficient qui caractérise la fluorescence par unité de volume de la solution. Si dm est la masse de la substance fluorescente contenue dans l'élément de volume $d\sigma$ on a

$$d\mathcal{F} = \mathcal{J} \phi \, dm$$

où ϕ est le pouvoir fluorescent spécifique. Il est rapporté à l'unité de masse de la substance dissoute. Si la cuve contenant la substance fluorescente est suffisamment épaisse et en examinant la lumière suivant la face perpendiculaire à la fa-

ce éclairée, il vient la relation

$$\Phi = \frac{\mathcal{F}}{J} (a_o + b_o) \qquad (1)$$

où a_o et b_o sont les coefficients d'absorption rapportés à l'unité de masse de la substance dissoute relativement à la radiation excitatrice et à la radiation de fluorescence observée. La mesure du pouvoir fluorescent peut se faire par comparaison au moyen du fluoromètre de F.PERRIN.

Par la suite F.PERRIN a établi une loi reliant le pouvoir fluorescent à la concentration. Cette loi a une forme exponentielle

$$\Phi = \Phi_o \, e^{-kc}$$

où Φ_o et k sont des constantes. k a été appelé coefficient d'affaiblissement de la fluorescence.

Après avoir introduit cette valeur de Φ dans la formule (1) on en tire l'expression

$$\log \mathcal{F} = \log \frac{\Phi_o}{a_o + b_o} - kc + cte.$$

La droite représentative de $\log \mathcal{F}$ en fonction de c coupe l'axe des ordonnées pour une valeur

$$\log \frac{\Phi_o}{a_o + b_o} + cte$$

ce qui permet à F.PERRIN de définir Φ_o comme étant le pouvoir fluorescent extrapolé.

CHAPITRE IV.- ABSORPTION ET FLUORESCENCE

Généralités.

Nous venons de voir que, chacun pour sa part, des phénomènes purement physiques : absorption et fluorescence, peuvent renseigner sur la constitution chimique des molécules dans des mesures différentes; la fluorescence n'est le fait que d'un nombre relativement restreint de substances, alors que l'absorption existe pour toutes les substances. Il est évident que la connexion des résultats découlant des deux phénomènes ne peut être que profitable et devient même une nécessité pour l'établissement de nouvelles relations entre les différents spectres et la structure moléculaire. C'est ainsi que FRANCK et KUHN (29) dans l'étude de l'absorption et de la fluorescence des vapeurs de AgBr et AgCl, par la position et la structure des spectres, les grandeurs relatives des quanta d'oscillation et leur variation, montrent que AgBr et AgCl sont, à l'état gazeux, des associations d'atomes; que LOOMIS (64) identifiant certaines raies du spectre de fluorescence de l'iode excitées au voisinage de la raie 5460 de Hg avec certaines raies du spectre d'absorption donne une analyse complète du spectre d'absorption et calcul les nombres quantiques absolus de rotation; que LEWSCHIN (59,60,61) peut rendre compte du comportement en solution de différentes molécules fluorescentes de colorants comme la rhodamine 6G, l'érythrosine, l'éosine, sous l'influence de différents facteurs comme la température, la concentration et la nature du solvant; et ces exemples ne forment qu'une proportion infime de ceux que nous pourrions citer.

Excitation de la fluorescence.

Indépendamment de ce qui précède rappelons deux faits qui à eux seuls seraient suffisants pour convaincre de la nécessaire conjuguaison des deux phénomènes : seules les substances douées d'absorption sélective peuvent être fluorescen-

tes; l'excitation de la fluorescence n'est pas possible avec n'importe quelle radiation.

Généralement l'excitation n'est pas le fait d'une radiation monochromatique; il s'agit plutôt d'une bande d'excitation à laquelle correspond une bande d'émission. La formule de WAWILOW (110) tente de définir la structure de la bande d'excitation, soit le rendement de la fluorescence R

$$R = \frac{I}{I_o}$$

où I est l'énergie émise par fluorescence sous l'excitation d'énergie incidente I_o correspondant à la longueur d'onde λ_o; on a

$$\frac{R}{\lambda_o} = \text{cte.}$$

Cette formule qui n'est valable qu'au dessous du maximum de fluorescence présente en outre de nombreux écarts (SZCZENIOWSKY (91)). D'ailleurs expérimentalement les choses sont moins simples : lorsqu'un spectre d'absorption présente plusieurs bandes il n'est pas forcé que toutes soient génératrices de l'excitation; il se peut aussi que chacune soit génératrice d'une fluorescence différente. Il découle de ceci que la majorité des travaux effectués à ce sujet ont surtout un caractère empirique.

C'est BOARDMANN (6) qui tenta le premier d'effectuer une classification basée sur les différents types d'excitation qu'il ramenait à trois principaux; il nota qu'aucune fluorescence ne peut être excitée au dessous de 200 mμ, et qu'à une bande d'absorption, correspond à une bande d'excitation, tout en remarquant que toutes les bandes d'absorption n'ont pas le pouvoir d'exciter la fluorescence. Plus récemment VLÈS (98) a proposé une classification dans laquelle il distingue les substances n'ayant qu'une seule bande d'excitation qui peut s'étendre sur tout l'ultra-violet (ombelliferone) ou limitée à une portion d'ultra-violet (acide nucléique) de celles qui ont plusieurs bandes d'excitation auxquelles correspondent soit une même fluorescence (quinine) soit des domaines de fluorescence différents (naphtalène).

Ce maximum d'excitation de la fluorescence correspond au sommet de la bande d'absorption (loi de HOWE). Cependant le spectre de fluorescence à la même distribution d'énergie quelle que soit la position d'une radiation monochromatique excitatrice contenue à l'intérieur de la bande d'excitation.

Certains cas comme le montre VLES (98) avec la serine et le cholesterol semblent mettre la loi de HOWE en défaut : à une bande d'absorption fondamentale correspond un minimum d'excitation; néanmoins l'auteur pense que la loi de HOWE reste valable et suppose qu'il pourrait y avoir "dissociation topographique de la fluorescence et de l'absorption, la substance se comportant comme un mélange d'un composant fluorescent et d'un composant non fluorescent mais fortement absorbant, dont la bande d'absorption propre interviendrait comme un écran dans le mécanisme global d'excitation de la fluorescence du premier constituant ".

Cas des vapeurs.

D'après V.HENRI et R.WURMSER (44) les spectres d'absorption de nombreuses vapeurs se divisent en 3 régions depuis l'infra-rouge jusqu'à l'ultra-violet compris :

1) - Région du type A, où le spectre est formé de bandes très fines, distribuées en séries, chaque bande se décomposant en suites de raies.

2) - Région du type B où le spectre est formé de bandes étroites (2 à 5 A°) absolument continues, distribuées en séries.

3) - Région du type C où le spectre d'absorption est formé de bandes très larges absolument continues (de plus de 100 A°). L'expérience montre que les rayons appartenant aux régions du type A provoquent une activation de la molécule; les mouvements de vibration des atomes et de rotation de la molécule sont quantifiés, alors que pour ceux des régions du type B seules les vibrations atomiques restent quantifiées. Dans les régions du type C ni vibrations, ni rotations ne sont plus quantifiées.

V.HENRI et R.WURMSER énoncent alors les règles suivantes: dans les régions du type A les rayons produisent seulement une activation de la molécule sans déformation; la molécule revient

à l'état normal en emettant un rayonnement de fluorescence qui est formé de bandes très fines distribuées en séries. Les rayons des régions du type B provoquent une activation et une dislocation de la molécule; les distances entre les atomes sont augmentées, la molécule est amenée à un nouvel état : la prédissociation; dans cet état la molécule est chimiquement activée, mais elle peut aussi revenir à l'état normal en émettant un rayonnement de fluorescence; cette fluorescence est formée de bandes fines. Les rayons des régions du type C produisent une dissociation de la molécule; si la molécule ainsi dissociée retourne à l'état de molécule normale par recombinaison des atomes, ce retour n'est pas accompagné d'émission d'un spectre de bandes.

Cas des liquides et des solutions.

Dans ce cas nous savons que le spectre est généralement formé de bandes larges seules ou plus ou moins irrégulièrement isolées. Il n'est plus question, comme pour les vapeurs de compartimenter le spectre en plusieurs zônes bien définies auxquelles correspondraient des rayons dont l'action serait également bien définie. Néanmoins si nous nous rappelons que l'excitation de la fluorescence est possible au moyen de radiations qui se trouvent à l'intérieur d'un domaine spectral coincident avec le domaine d'absorption, on a par là même défini une région du spectre. Nous verrons plus tard que parmi les diverses explications possibles de ce phénomène l'une des plus probables serait d'étendre à cette région pour les molécules en solution la notion d'état de prédissociation que V.HENRI et R.WURMSER utilisaient, dans des zônes certes beaucoup mieux délimitées, pour les vapeurs. Au delà, vers les courtes longueurs d'onde serait le domaine des radiations dont l'énergie serait suffisante pour dissocier les molécules (photolyse) sans émission ultérieure de radiations (fluorescence). Vers les grandes longueurs d'onde, comme aucune fluorescence n'a jamais été observée dans l'I.R., les radiations excitatrices ne pourront pas dépasser le visible, même si on tient compte des radiations dites "antisto-

kes". Ces radiations sont telles qu'elles donnent naissance à de la lumière de fluorescence de plus petite longueur d'onde que la lumière excitatrice; cela pourrait constituer une contradiction avec la règle de STOKES; à vrai dire, à la température ordinaire, le domaine correspondant aux radiations excitatrices peut empiéter légèrement sur celui des longueurs d'onde émises et cela nous oblige à préciser la règle de STOKES en disant que le maximum d'intensité de radiation de fluorescence se trouve toujours dans la région de longueurs d'onde plus grandes que celui de l'excitation.

CHAPITRE V.- BUT DU TRAVAIL.

Nous avons été ainsi amenés à penser qu'une modification moléculaire quelconque imputable à la prédissociation produite par des radiations convenables, pouvait être décelée dans le spectre d'absorption. Déjà à la suite des travaux de BURKE, NICHOLS et MERRITT, en 1908, utilisant une méthode photométrique, avaient indiqué "que le verre d'urane devenait plus absorbant lorsqu'il est fluorescent que lorsqu'il ne luit pas". WOOD reprenant l'expérience nia par la suite l'existence du phénomène, tout en admettant que la question n'était pas encore tranchée, et à notre connaissance on n'est plus revenu sur cette question. Depuis s'adressant à la vapeur de mercure rendue luminescente électriquement METCALFE et VENKATESACHAR (70) ont montré que l'absorption de cette vapeur croit avec l'intensité de la luminescence. Par contre ROBERTSON (83), puis NEWMANN (74) n'enregistrent aucun résultat positif avec la vapeur de sodium traitée dans les mêmes conditions. Enfin MEISSNER (69) constate que pour le néon l'absorption tend vers une saturation quand la luminescence croit dans le tube absorbant.

Transposant ces préoccupations dans le domaine des solutions, il nous a paru plausible qu'une excitation supplémentaire et importante de la fluorescence d'un corps donné puisse provoquer une modification de son spectre d'absorption ultra-violet. Cette hypothèse s'est trouvée confirmée par les expériences qui constituent l'ossature du présent travail.

D E U X I E M E P A R T I E

TECHNIQUES - DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX

Préparation des solutions

Les solutions aqueuses ont été préparées avec de l'eau bidistillée la plus pure possible. Leur concentration est habituellement de l'ordre de M/1000, M/5000, M/10000 et très rarement pour des substances très peu solubles, de l'ordre de M/100000. Les solutions effectuées dans les solvants organiques sont à des concentrations analogues.

Toutes ces solutions sont donc très diluées et présentent l'inconvénient de n'être pas tamponnées. Cependant nous avons préféré les utiliser telles quelles sans l'addition de substances à grand pouvoir tampon, de peur que ces dernières n'exercent une influence sur la forme de la molécule et par contre-coup sur l'allure de son spectre. A cette dilution, en effet, nous pouvons être assurés d'avoir l'avantage d'une dissociation complète des sels, et comme les mesures sont toujours faites sur des solutions fraichement préparées, celles-ci n'ont pu être perturbées par l'action des différents facteurs extérieurs (lumière, CO_2 etc...). Nous verrons plus tard qu'il n'y a pas lieu de s'éxagérer l'importance de cette action.

Mesure du pH.

Nous avons mesuré le pH de toutes nos solutions avec l'électrode à antimoine de VLES et WELLINGER (101), décrite par Mlle GEX (31). Pour qu'elle puisse donner de bons résultats cette électrode doit être utilisée dans un montage en différentiel de deux éléments semblables A et B (VLES et WELLINGER (102).) Chaque élément comprend une pile au calomel normale et une électrode formée par un petit bâton d'antimoine. A l'élément A on ajoute une solution de référence, en général une solution d'acide chlorhydrique N/10 dans laquelle plonge un bâton d'antimoine. L'autre bâton est relié au précédent et plonge dans la

solution à essayer qui est en contact avec l'élément B. La force électromotrice développée est mesurée au grand potentiomètre de CHAUVIN et ARNOUX en utilisant un montage en opposition (POGGENDORF) ce qui permet d'utiliser un galvanomètre de zéro; comme source d'opposition, on utilise un accumulateur de 2 volts, lui-même réglé avant les mesures sur un élément WESTON étalon. Dans ce dispositif la force électromotrice E est liée au pH par une loi linéaire, entre pH = 1 et pH = 12

$$E = M \times pH + N$$

dans laquelle le terme M est rigoureusement constant, et le terme N varie dans de faibles limites par suite de l'apparition de forces électromotrices parasites qu'il est difficile d'éliminer.

On se voit dans l'obligation d'effectuer un étalonnage préalable. Pour cette raison on utilise 3 ou 4 solutions tampons de pH bien stable et mesuré une fois pour toutes à l'électrode à hydrogène. Pour la connaissance du principe de cette électrode on peut se référer aux livres de CLARK (20) et de VLES (97). Avant chaque séance de mesures, on détermine la valeur de la force électromotrice qui correspond à chacun de ces tampons; puis on la porte en abcisses sur un graphique avec le pH correspondant en ordonnées. Les points ainsi obtenus doivent déterminer une droite qui représente l'expression précitée.

Nous avons utilisé les tampons suivants :

1) - Soude N ..... 50 cc.
Acide acétique N ..... 100 cc.
Eau distillée q.s.p... 500 cc. } pH = 4,62

2) - Acide borique N/5 .... 20 cc.
Borate de soude N/20 . 80 cc. } pH = 8,63

3) - Carbonate de soude à 10 molécules d'eau M/10 ..... pH = 11,14

Les petits échantillons de ces solutions, employés successivement au contact des électrodes d'antimoine en opposition sont rejetés chaque fois et ne servent qu'à l'étalonnage des dites électrodes. Ils n'entrent jamais au contact des solutions destinées à l'absorption.

L'erreur commise dans la mesure des forces électromotrices est de l'ordre du millivolt. La somme des erreurs commises au cours de l'étalonnage et de la mesure proprement dite est telle qu'il en résulte sur les valeurs du pH une erreur voisine de 0,05.

Dispositif spectrographique.

Le dispositif spectrographique normal se compose d'un spectrographe à optique de quartz et d'une lampe à hydrogène de CHALLONGE et LAMBREY (18), modèle DUNOYER, qui donne dans l'ultra-violet un spectre continu. La lumière de la source est projetée à travers la cuve contenant la solution à étudier, sur la fente du spectrographe.

1) - Eclairage.- L'alimentation de la lampe à hydrogène est maintenue rigoureusement constante sous la tension de 2000 volts, et cela pour tout l'ensemble de nos expériences. De plus, comme l'énergie calorifique mise en jeu dans la décharge lumineuse est grande et risquerait de détériorer le tube, il est nécessaire d'assurer une réfrigération par circulation d'eau froide dans l'appareil. Il est même utile, avant de commencer une série de mesures, de faire passer le courant d'eau pendant quelques minutes pour que le tube puisse prendre une température constante.

2) - Spectrographe - L'appareil que nous avons employé est un spectrographe à optique de quartz de JOBIN et YVON, type "Zelande" mis au point par VLES qui a adapté à cet appareil un dispositif spectrophotométrique; une ouverture de dimensions variables permet d'introduire dans l'appareil des faisceaux uniformes dont la surface de section est connue par l'intermédiaire d'un tambour gradué. L'agencement de l'optique à l'intérieur du spectrographe a été décrit par JOBIN et YVON (48).

3) - Cuves - Habituellement les cuves utilisées sont constituées par une plaque de verre épaisse découpée en forme de U et d'épaisseur exactement mesurée, sur l'évidement de laquelle on applique 2 lames de quartz à faces parallèles bien travaillées et exemptes de biréfringence; l'ensemble est interposé entre la source et le spectrographe de telle manière que le rayonnement tombe normalement sur la face des lames.

Nous nous proposons d'exciter la fluorescence pendant son absorption. L'excitation est produite par un rayonnement intense issue d'une puissante lampe à mercure munie de fenêtres en quartz, que l'on a disposé sur le côté du montage spectrographique normal, en face de la cuve.

Nous avons ainsi été conduit à construire une cuve munie de 3 glaces en quartz, disposées de la manière suivante (voir figure No 1) : 2 glaces parallèles pour l'absorption, distantes de 1,3 cm. ; la 3e perpendiculaire aux deux autres laisse passer le rayon ultra-violet excitateur. Certaines de nos expériences ayant nécessité un renouvellement constant des solutions, nous avons ajouté à cette cuve un système d'ajutage qui permet à la solution de couler de bas en haut, lentement et régulièrement, et avec un débit réglable et bien défini.

Mais le rayonnement latéral n'excite pas uniformément la région de la cuve dans laquelle se produit l'absorption. En effet l'intensité de la fluorescence, importante au point d'impact du rayonnement excitateur, tend à diminuer au fur et à mesure qu'il pénètre à l'intérieur de la solution car la molécule fluorescente est absorbante pour la radiation excitatrice et diminue progressivement l'énergie de celle-ci. A un moment donné il n'y aurait donc pas homogénéité dans l'intensité de l'excitation des différentes molécules responsables de l'absorption. De plus, comme nous le verrons plus loin, il ne nous a pas paru indiqué d'obliger la solution de couler dans la cuve suivant un courant laminaire, afin de ne pas nous placer dans le cas particulier de molécules qui risqueraient d'être orientées suivant une direction commune.

D'autre part pour des corps très peu solubles, la dilution de nos solutions était telle (M/100000) que, pour obtenir des spectres d'absorption lisibles, nous avons été obligé d'utiliser des cuves épaisses de 10 cm. Il devenait alors difficile d'éclairer ce type de cuve latéralement sur toute sa longueur, comme il aurait été indiqué de le faire si nous voulions opérer dans les meilleures conditions possibles. Dans le cas de solutions très diluées nous avons donc envoyé le faisceau excitateur obliquement sur la face de sortie du faisceau absorbant, en interposant un prisme à réflexion totale en quartz disposé légèrement en retrait

de la cuve. Dans cette cuve l'écoulement des solutions s'effectue lentement d'arrière en avant suivant un régime turbulent. L'obliquité du cheminement du faisceau excitateur dans la cuve donne là, comme dans le type de cuve précédent, une excitation non homogène.

C'est ainsi que nous nous sommes servi le plus souvent d'une cuve de 0,5 cm d'épaisseur, placée de telle sorte que les deux faisceaux se coupent à angle droit sur la face d'entrée de la cuve, et font ainsi un angle de 45° avec sa normale. De cette façon la répartition de l'excitation des molécules responsables de l'absorption est homogène et l'excitation elle-même est maximum pour l'ensemble des molécules considérées. Les solutions s'écoulent de bas en haut, suivant un régime turbulent et peu rapide par l'entremise d'un système d'ajutage et de siphons appropriés.

Lorsqu'il s'est agi d'obtenir des spectres d'absorption de solutions aqueuses à la température ordinaire, nous nous sommes contentés de coller à la paraffine les glaces de quartz sur leur support en verre. Mais ce procédé n'a plus été valable lors de l'utilisation de liquides organiques, volatils ou solvants de la paraffine, ou lorsqu'il a fallu opérer à une température plus élevée. Pour les liquides organiques volatils nous avons utilisé un support en verre, non plus découpé en U, mais percé d'un trou circulaire; on a ménagé pour l'introduction des liquides, vers la partie supérieure, une petite ouverture facile à obturer; pour coller les glaces de quartz, nous avons remplacé la paraffine par de la gélatine : cette dernière est insoluble dans la plupart des liquides organiques; cependant comme elle présente de fortes bandes d'absorption dans l'ultra-violet et pour éviter toute cause d'erreur, la gélatine n'est appliquée que sur le pourtour extérieur de la lame de quartz. La solution est alors séparée de la gélatine par un film capillaire très mince; il n'y a pas à redouter de transmission de traces de gélatine jusqu'à la solution. Dans le cas où nous avions à opérer à des températures proches de 70° centigrades, nous avons construit des cuves dont les glaces étaient scellées au moyen d'un ciment formé d'un mélange de kaolin et de silicate de soude. Mais en définitive la solution la plus élégante consiste à maintenir les joues de quartz sur le support en verre par une simple pression uniformément répartie sur les surfaces qui sont accolées : l'étanchéité, sans être absolue, est suffisan-

te pour la durée de la mesure et surtout on ne court pas le risque de voir les solutions souillées par des impuretés qui pourraient être introduites par les substances utilisées dans le collage des différentes pièces.

Technique spectrographique.

Nous avons invariablement utilisé la fente du spectrographe à l'ouverture de 30/100 de mm pour des temps de pose rigoureusement identiques de l'ordre de 6 secondes; l'obturateur construit au laboratoire se compose essentiellement d'un écran, muni d'une ouverture rectangulaire; il est fixé sur un écrou qui se déplace sur un axe fileté; cet axe fileté s'engrène sur l'axe d'un moteur électrique fonctionnant d'après la fréquence du courant alternatif, grandeur remarquablement constante. L'orifice de l'écran est placé au voisinage de la région la plus étroite du faisceau lumineux (en avant de la cuve). Quoique la tache obtenue sur l'écran dans l'obturation du faisceau soit assez grande (6 mm de diamètre), l'obturateur interceptant et rétablissant ce faisceau d'une manière identique, la quantité de lumière qui frappe finalement un point de la plaque photographique, est absolument indépendante de la vitesse de déplacement de l'écran et des dimensions du faisceau lumineux.

Dans la grande majorité des cas, et bien que le chassis porte-plaque permette l'emploi de plaques 18/12 cm nous nous sommes contentés de plaques de longueur moitié, qui, convenablement calées dans le chassis, englobaient la région intéressante du spectre. Nous avons employé des plaques LUMIERE, étiquette bleue; nous les avons toujours développées à fond avec un révélateur à l'hydroquinone-métol, additionné d'une petite quantité de bromure de potassium; avec ce révélateur on obtient un cliché qui se développe lentement et qui donne après fixage des noirs bien modelés particulièrement propices à la lecture du spectre.

Pour l'obtention et la lecture des clichés, nous avons mis en jeu deux méthodes : l'une qui permet d'obtenir directement la valeur de K, coefficient d'absorption, en fonction de λ, l'autre, qui par son automatisme paraît particulièrement bien adaptée à la comparaison de spectres peu différents. Il est nécessaire de prendre pour le séchage des plaques, comme dans toute technique

spectrophotométrique, toutes les précautions voulues pour éviter toute trace de voile ou toute tache diffuse qui enlèverait toute sécurité à la méthode.

1) - Méthode spectrophotométrique par comparaison des noirs photographiques.

La glissière du porte-chassis permet de photographier 14 spectres de 2 mm.de largeur environ. On juxtapose bord à bord sur la plaque les spectres de la solution et du dissolvant deux à deux. Un intervalle clair d'environ 1 mm sépare les paires de spectres entre elles et permet de bien observer leurs rapports de noircissement, La surface de section des faisceaux admis dans le spectrographe est calculée dans chaque paire de spectres de telle façon que le cologarithmedes rapports de leur aire soit un nombre simple comme 0,10 0,20 0,30 0,45 etc...

Or, dans le cas où il y a égalité de noirs photographiques dans une paire de spectres considérés, le rapport des deux aires est égal au rapport $\frac{I}{I_o}$ qui entre dans la loi de BEER-LAMBERT

$$\frac{I}{I_o} = 10^{-Kcl} \quad (1) \quad \text{ou} \quad \text{colog.} \frac{I}{I_o} = Kcl \quad (1')$$

c concentration de la solution en grammes par litre
l longueur de la solution traversée en cm
K coefficient d'absorption
I_o intensité du rayon lumineux qui tombe sur le corps absorbant
I intensité du rayon lumineux à sa sortie

La lecture du cliché se fait par observation directe sur un négatoscope en recherchant sur chaque paire de spectres juxtaposés la région pour laquelle les noirs photographiques sont identiques. On obtient ainsi la courbe

$$\text{colog.} \frac{I}{I_o} = f(\lambda) \quad \text{d'où on tire la courbe } K = f(\lambda).$$

Voici à titre d'exemple l'exposé des calculs et des pointages qui nous ont permis de construire la courbe relative au chlorhydrate d'hydrastinine en solution aqueuse à la concentration de M/10000 (Graphique No 1).

La masse moléculaire du chlorhydrate d'hydrastinine étant égale à 225,5 gr. pour obtenir une telle concentration il faudra en dissoudre 0,2255 gr. dans 10 litres d'eau, l'épaisseur de solution traversée est de 0,5890 cm. En portant ces données dans la formule (1') il devient

$$K = \text{colog.}\ \frac{I}{I_o} \times 7{,}53 \times 10^4$$

Nous disposons alors nos résultats sous forme d'un tableau, à partir duquel il est aisé d'opérer le tracé de la courbe $K = f(\lambda)$

TABLEAU I

colog.$\frac{I}{I}$	K x10^4	Longeur d'onde en mμ des noirs photographiq.égaux					
1	7,53					256	240
0,9	6,78					257	236
0,8	6,02					257,5	
0,7	5,27					259	
0,6	4,52					260,5	
0,5	3,77		370(0,49)			261	
0,45	3,39	378	350	308(0,41)		261,5	
0,40	3,01	383	346	310	305	261,5	
0,35	2,635	392	337	313	298	262	
0,30	2,26	396	332	314	294	264	
0,25	1,885	397	322(0,27)		291	265	
0,20	1,505	398			286	267,5	
0,15	1,13	415			275(0,12)	268	
0,10	0,753	430					

2) - <u>Méthode comportant l'emploi d'un spectrophotomètre enregistreur</u>.

Pour la construction de notre spectrophotomètre enregistreur, nous nous sommes inspirés des travaux de DONZELOT (23). Schématiquement cet appareil comporte une source de lumière d'intensité rigoureusement constante et une cellule photoélectrique à couche d'arrêt, entre lesquelles on dispose le spectre à analyser; le système optique fournit une image lumineuse verticale de très petites dimensions; la partie de la plaque photographique à explorer se trouve au point le plus étroit du faisceau

et se déplace perpendiculairement à l'axe; la lumière qu'elle laisse passer est envoyée sur la cellule photoélectrique qui traduit en courant électrique le flux lumineux qu'elle reçoit.

Voici les caractéristiques de notre montage, qui a été entièrement réalisé et mis au point au laboratoire : la source lumineuse est constituée par une lampe à filament rectiligne disposé verticalement; elle est branchée directement sur une batterie d'accumulateurs de 12 volts. Un objectif de microscope (achromatique) donne une image du filament dans le plan où se meut la plaque à lire. Une fente très fine, verticale, dont la longueur est inférieure à la largeur du spectre ($< 0,5$ cm) est ménagée dans une joue métallique arrondie, qui s'applique immédiatement sur la région de la plaque intéressée par le faisceau lumineux; elle diaphragme le pinceau lumineux qui tombe sur la cellule photoélectrique elle-même incluse dans une chambre noire. Le courant électrique développé aux bornes de la cellule photo-électrique est admis dans le cadre d'un galvanomètre très sensible; un spot ponctuel vient se projeter sur un papier enregistreur enroulé sur des tambours dont les mouvements sont solidaires du déplacement de la plaque grâce à un système démultiplicateur à embrayage approprié. Il suffit de pointer sur le papier enregistreur les positions du spot au cours du passage des différentes régions du spectre devant le trait lumineux pour avoir tous les détails de la courbe donnant la transparence du spectre en fonction de la longueur d'onde.

Une condition essentielle de la bonne marche de l'appareil réside dans sa stabilité optique. Il eut été indiqué d'en assujettir l'ensemble sur un socle en maçonnerie et de loger le tout dans une chambre en sous-sol à l'abri des trépidations et des changements de température. Malheureusement il ne nous a pas été donné de choisir les locaux dans lesquels notre laboratoire a dû se replier pendant la période des hostilités; et il nous a fallu opérer au deuxième étage d'un établissement dont les murs manquent de stabilité. Nous avons ainsi été contraints de compenser cette infériorité technique par l'exécution de nombreux tracés en vue de l'obtention d'une seule courbe : nous considérons une courbe comme bonne lorsque 3 tracés qui la concernent sont exac-

tement superposables; l'exécution de chaque tracé est effectuée en une heure de temps environ, ce qui nécessite pour dessiner une courbe un minimum de trois heures de travail.

La constance de l'éclat de la lampe est sous la dépendance de la bonne charge des accumulateurs, qui doivent être entretenus avec soin; le branchement de la lampe sur les accumulateurs est effectué directement et lorsque nous avons été amenés à modifier l'intensité du faisceau tombant sur la plaque, nous avons simplement changé la distance de la lampe par rapport au système condensateur, tout en n'omettant pas de refaire dans chaque cas, la mise au point de l'image du filament sur la plaque.

On peut avoir tendance à considérer que la formation d'une image nette d'une source lumineuse par un système centré, donnera sur la plaque une zône éclairée parfaitement définie. Il n'en est rien : après réduction, la couche d'argent se comporte comme un milieu trouble, car elle est discontinue. Les régions de la plaque avoisinant la zône éclairée, ou se trouvant dans cette zône, produiront une diffusion plus ou moins intense suivant qu'elles sont plus ou moins opaques. C'est ainsi que pour réduire les effets perturbateurs de cette diffusion, nous avons appliqué la fente diaphragme le plus près possible de la plaque. On a donné à la distance qui sépare la cellule photoélectrique de la fente une valeur telle que le faisceau lumineux vient couvrir, avec une densité égale, quelle que soit son intensité, toutes les parties photosensibles de la cellule. La cellule photoélectrique est douée d'une excellente sensibilité et ne présente pratiquement pas d'inertie; on s'est toujours placé dans la zône de sensibilité pour laquelle la relation flux lumineux - courant électrique est linéaire en dosant l'éclat de la lampe. De toute façon nous n'avons jamais eu à modifier grandement cet éclat, car nous nous sommes attaché à réaliser sur nos clichés des noircissements dont la densité optique ne s'écarte pas trop dans l'ensemble d'une valeur moyenne égale à 0,5 ; et de plus les forts noircissements sont peu avantageux car les déviations du galvanomètre sont trop petites et les erreurs relatives deviennent notables; de trop faibles noircissements sont également gênants à cause de l'importance des grains de la plaque.

En fin un des facteurs essentiels de l'utilisation d'un microphotomètre consiste dans l'emploi d'une vitesse convenable pour le passage de la plaque devant le spot. La discussion de cette question a été faite d'une manière approfondie par DONZELOT (23 bis); il est nécessaire de considérer l'inertie de l'ensemble récepteur-galvanomètre en s'arrangeant pour que le temps que met le spot à se déplacer de sa propre largeur soit supérieur ou au moins égal, à l'inertie de l'ensemble; ceci permet de déterminer la vitesse de déplacement de la plaque. L'entrainement de l'ensemble formé par la plaque et les tambours supports du papier enregistreur, peut être effectué soit à l'aide d'un mouvement d'horlogerie, soit simplement à la main par l'intermédiaire d'une manivelle. Ce dernier procédé peut sembler moins sûr que le premier en raison de son manque d'automatisme, il est vrai qu'un entrainement lent et continu, à une vitesse rigoureusement constante et bien définie, est nécessaire lorsqu'on veut atteindre la structure fine du spectre. Mais pour nous dont les préoccupations ne sont pas dirigées dans cette voie, les deux procédés ont sensiblement la même valeur au point de vue des résultats obtenus, à condition lorsque l'entrainement est effectué à la main, de s'imposer un rythme calculé et régulier, ce qui, avec un peu d'entrainement s'acquiert aisément.

Le plus souvent, comme il s'est agi d'effectuer des comparaisons de spectres, nous avons reproduit directement les courbes ainsi enregistrées; on a donc une représentation graphique de la transparence des noirs photographiques en fonction de la longueur d'onde et non pas, comme c'est usuel de K, coefficient d'absorption, en fonction de la longueur d'onde. Comme nous l'avons vu, la première méthode nous permet de connaître directement la valeur de K pour les différentes régions du spectre; cependant nous nous sommes réservé la possibilité de la calculer, sans passer par cette méthode, à partir des clichés obtenus en vue de leur utilisation au spectrophotomètre. Pour cela nous nous sommes inspiré de la méthode décrite par DONZELOT et que MOUGENOT (73) et Mlle LAINE (54) ont appliqué à l'étude de la structure fine du spectre de nombreux alcaloides.

Sur une même plaque nous photographions le spectre de la substance étudiée pour une ouverture du dispositif spectrophotométrique déterminée, et à côté, successivement 3 spectres du solvant pour des ouvertures du dispositif spectrophotométrique croissant suivant une progression géométrique égale à 2. Ces trois spectres de comparaison d'intensité I_o, $I_o/2$, $I_o/4$ permettent de préciser l'équation qui relie la densité du noir photographique d et l'intensité I de la lumière incidente : Pour des zônes d'exposition moyenne, la relation est linéaire

$$\log I = k + \frac{1}{\gamma} d$$

où k et γ sont des constantes déterminées pour chaque plaque.

Cette relation peut être prise sous une forme différente, à savoir

$$\log I = A - \frac{1}{\gamma} \log i$$

car la valeur de la densité du noir photographique est donnée par la formule

$$i = i_o \, 10^{-d}$$

que l'on peut encore écrire

$$d = \log i - \log i_o$$

et porter sous cette forme dans la première expression.

On obtient la valeur de i_o et de i en se référant à l'indication donnée par l'appareil respectivement dans les régions claires de la plaque et dans celle sur laquelle on veut faire la mesure.

Si nous attribuons aux trois spectres de comparaison des intensités exprimées en unités arbitraires, par exemple (4) (2) (1) pour lesquelles le spectrophotomètre donnera comme indication $a_{(4)}$, $a_{(2)}$, $a_{(1)}$. Pour le spectre étudié et pour une certaine longueur d'onde, l'intensité sera par exemple comprise entre (2) et (1) et le spectrophotomètre donnera une indication x telle que $a_{(1)} > x > a_{(2)}$.

On écrira :

$$\log (1) = A - \frac{1}{\delta} \log a_{(1)}$$
$$\log (2) = A - \frac{1}{\delta} \log a_{(2)}$$
$$\log I = A - \frac{1}{\delta} \log x .$$

Par élimination des constantes inconnues, on tire :

$$\frac{\log I - \log (1)}{\log(2) - \log (1)} = \frac{\log a_{(1)} - \log x}{\log a_{(1)} - \log a_{(2)}}$$

ou $$\log \frac{I}{(I)} = \log 2 \frac{\log a_{(1)} - \log x}{\log a_{(1)} - \log a_{(2)}}.$$

De cette valeur de I on passe à la valeur du coefficient d'absorption K par l'application de la loi de BEER-LAMBERT (voir page 36).

DONZELOT et ses élèves admettent sur la valeur de K une erreur maximum de 1,57 % en tenant compte de toutes les causes d'erreurs qui entrent dans l'obtention du cliché et de son dépouillement.

Mais comme nous l'avons déjà dit, ce n'est pas tant la valeur absolue de K qui suscite notre intérêt, que la comparaison de deux valeurs assez proches correspondant à deux spectres de la même substance obtenus avec ou sans irradiation simultanée. Or nos expériences ont été toujours conduites de la même manière, que ce soit par l'une ou l'autre des deux méthodes précédemment décrites (l'éclat des sources, le temps de pose sont maintenus invariablement à la même valeur). Dans la comparaison des deux valeurs du coefficient d'absorption il ne pourra y avoir de cause d'erreur que dans le dépouillement de la plaque au spectrophotomètre; et même, comme les erreurs sont vraisemblablement dans le même sens, puisque l'un et l'autre des tracés sont effectués dans les mêmes conditions, on peut admettre que la détermination de la valeur de la différence qui existe entre les valeurs de K, une erreur négligeable.

T R O I S I E M E P A R T I E

POSITION DU PROBLEME

CHAPITRE I.- CHOIX DES SUBSTANCES ETUDIEES

Plusieurs mobiles nous ont poussé à choisir en vue d'une étude préliminaire, des substances dont la liste peut paraître de prime abord assez disparate. Notre principale préoccupation a été de ne mettre en expérience que des composés chimiques de formule bien définie et dont les caractères de pureté ont été bien déterminés; ces faits sont particulièrement importants à considérer car les spectres d'absorption peuvent subir d'importantes perturbations à la suite d'une altération légère de la structure de la molécule, ou par la présence d'une impureté même en quantité minime. Un exemple donné par Mme RAMART-LUCAS (82), à propos de la grande modification du spectre d'absorption du dibenzyle par des traces de stilbène est très éloquent à ce sujet.

D'autre part il était préférable que nous ayons affaire à des spectres bien étalés et pourvus de bandes nettement délimitées.

Enfin nous avons éliminé des substances telles que l'atropine dont la fluorescence est uniquement dans l'ultra-violet moyen, pour accorder notre préférence à des corps dont le spectre de fluorescence est localisé dans le visible et dans le proche ultra-violet.

Ces trois préoccupations ont ainsi limité considérablement notre choix, dont le champ était déjà diminué par les difficultés d'approvisionnement de produits chimiques inhérentes aux événements du moment.

Quelques propriétés physiques et principaux caractères de pureté des différentes substances chimiques.

Les substances chimiques étudiées peuvent être réparties en deux groupes suivant qu'elles sont fluorescentes ou non en solu-

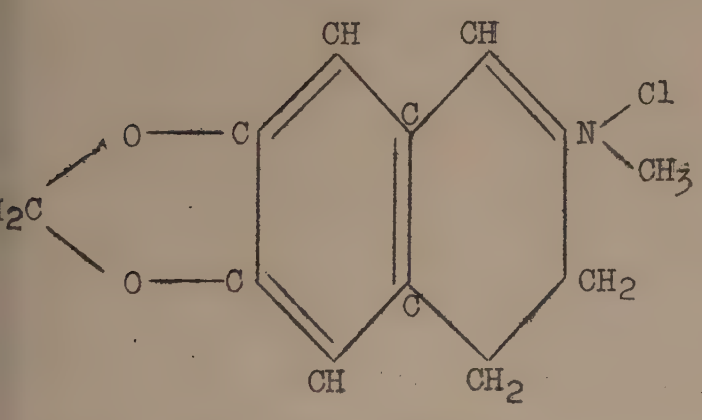
tion aqueuse : a) Substances fluorescentes : chlorhydrate d'hydrastinine, chlorhydrate basique de quinine, sulfate neutre de quinine, acide salicylique, fluorescéine; b) Substances peu ou pas fluorescentes : théobromine, chlorhydrate de morphine, phénolphtaléine et acide barbiturique.

Pour chacune de ces substances nous mentionnerons leurs principaux caractères physiques et chimiques qui nous ont permis de constater leur identité et leur pureté ainsi que les principaux accidents de leur spectre d'absorption dans l'ultraviolet.

Ceci fait, nous pourrons alors envisager dans leur ensemble les modifications apportées à leur spectre pour des pH déterminés par les différents systèmes d'irradiation que nous avons exposés dans ce qui précède.

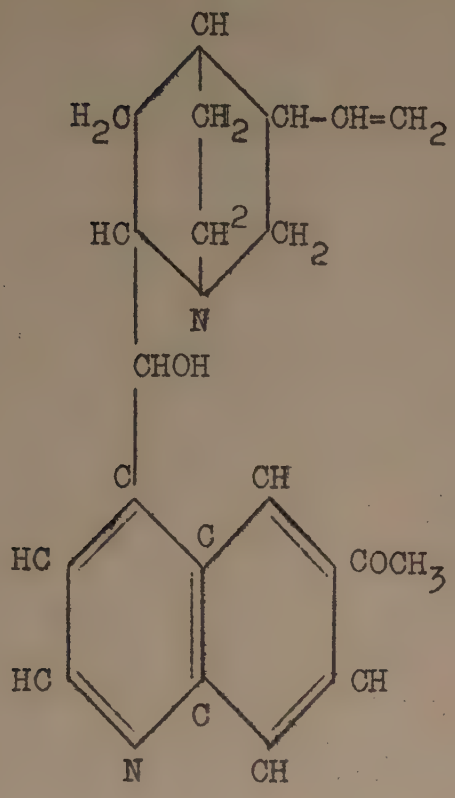
Chlorhydrate d'hydrastinine $C_{11}H_{12}O_2NCl$ - Echantillon de la maison Rhône-Poulenc.

C'est un corps qui cristallise en aiguilles jaune pâle. Il fond vers 212° en s'altérant. La solution aqueuse ne doit pas se troubler par l'ammoniaque, fait qui indiquerait la présence d'hydrastine; on note l'absence de berbérine, alcaloide voisin, si la solution concentrée du sel dans l'eau, alcalinisée par de la soude, laisse cristalliser après repos des cristaux incolores dans un liquide incolore.



Entre 245 et 420 mμ le spectre de l'hydrastinine, pour des pH voisins de la neutralité présente trois bandes. Ces trois bandes ont leur sommet respectivement à 248, 307 et 375 mμ. Une étude détaillée de ce spectre faite par EL FALLAH (27) montre que les variations de l'acidité du milieu n'influent pas sur la position des trois bandes dans l'échelle des longueurs d'onde mais modifie par contre fortement la grandeur du coefficient d'absorption.

Sels de quinine



QUININE

a) Chlorhydrate basique de quinine

$C_{20}H_{24}N_2O_2$, ClH, 2 OH_2

Echantillon de la maison Salle de Paris.

Cette substance cristallise en fines aiguilles, longues, soyeuses, incolores. Sa solution aqueuse donne pour la raie D du sodium une déviation du plan de polarisation correspondant à un pouvoir rotatoire de $\alpha_D = -147,8$. Ce produit est combustible sans résidu; on a constaté que sa solution aqueuse ne précipite ni par le chlorure de baryum (absence de sulfates), ni par l'acide sulfurique dilué (absence de baryum), et lorsqu'elle est portée à l'ébullition avec la soude, ne dégage pas de vapeurs alcalines (absence d'ammoniaque et de bases volatiles), que le produit ne contient, en outre, aucun alcaloide voisin et plus particulièrement la cinchonidine, la meilleure preuve étant donnée dans ce cas par la valeur du pouvoir rotatoire spécifique qui ne doit pas être différent de celui que nous avons indiqué précédemment.

b) Sulfate neutre de quinine - $C_{20}H_{24}N_2O_2$, SO_4H_2, 7 OH_2 - Echantillon de la maison Salle de Paris.

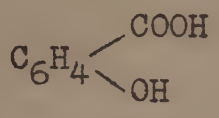
Il se présente en prismes orthorhombiques incolores, brillants. Il se liquéfie vers 80° dans son eau de cristallisation lorsqu'on le chauffe rapidement, et, après dessication fond à 135° en se transformant en sulfate de quinicine appelé aussi sulfate de quinotoxine. Son pouvoir rotatoire qui est pour la raie D du sodium $\alpha_o = -204°,8$ constitue, en outre, une garantie de pureté; il est bon aussi de vérifier l'absence d'impuretés organiques carbonisables, de même que celle des chlorures (par l'a-

zotate d'argent) et des sels ammoniacaux, bases volatiles (par dégagement de vapeurs alcalines après chauffage en présence de soude).

Pour ces deux sels de quinine nous avons obtenu, en bon accord avec HANS FISCHER (78) des spectres très comparables. A pH = 6,3 ils offrent deux bandes bien séparées, avec leurs sommets situés à 278 et 333 mμ.

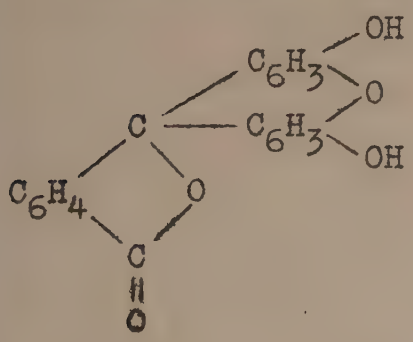
Acide salicylique ou acide orthoxybenzoique - $C_7H_6O_3$ - Echantillon de la maison Rhône-Poulenc.

L'échantillon a été sublimé. On a obtenu de fines aiguilles incolores qui fondent à 157°. On a vérifié l'absence de phénol, facilement reconnaissable à son odeur, qui a pu être formé lors d'une décomposition de l'acide salicylique en cas d'une chauffe trop brutale. En solution aqueuse l'acide salicylique présente un spectre formé d'une bande dont le sommet est à 295 mμ ; en milieu alcalin on n'observe pas de changement dans la place de cette bande.



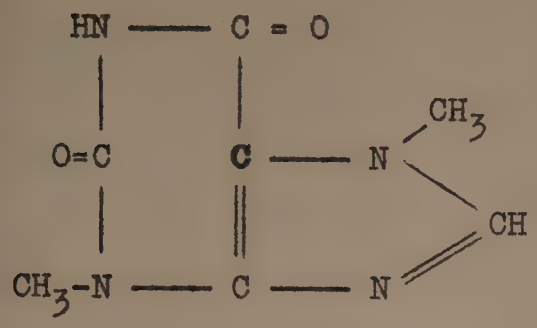
Fluorescéine - (phtaléine de la résorcine) - $C_{20}H_{12}O_5$ - Produit R.A.L. de la maison Rhône-Poulenc.

La fluorescéine se présente sous forme d'une poudre jaune rougeâtre, soluble dans l'eau en milieu alcalin. Son spectre paraît ne pas justifier notre choix, car il manque en raison de l'encombrement de la molécule par trois noyaux benzéniques, de bandes d'absorption nettement définies. Cependant la fluorescence d'une solution alcaline de fluorescéine étant très intense, il nous a paru intéressant de mettre en parallèle vis-à-vis du nouveau phénomène que nous étudions, cette substance et d'autres, comme la phénolphtaléine, qui bien qu'ayant une structure comparable, n'est pas fluorescente. On note dans le spectre de la fluorescéine deux bandes peu accentuées dont les sommets sont l'un à 285, l'autre à 324 mμ.



Théobromine - $C_7H_8O_2N_4$ -

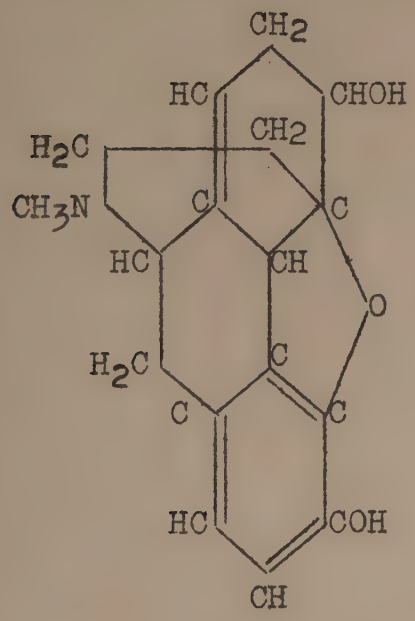
Echantillon de la maison Rhône-Poulenc.



La théobromine se présente sous la forme d'une poudre blanche incolore, formée de très fines aiguilles microscopiques, et se sublime sans fondre aux environs de 260°. Utilisant sa propriété d'être insoluble dans la benzine à froid, on a noté l'absence de caféine par le fait qu'elle n'a rien cédé par trituration en présence du benzène. D'ailleurs le spectre d'absorption obtenu par nous et qui comporte une bande importante centrée sur 272 mμ est identique à celui qui a été décrit par HENEIN (38).

Chlorhydrate de morphine - $C_{17}H_{19}O_3N$, HCl 3 OH_2 -

Echantillon de la maison Boyer de Paris.

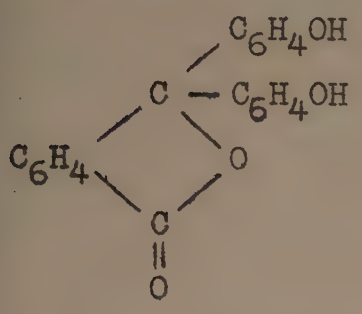


Morphine selon KNORR

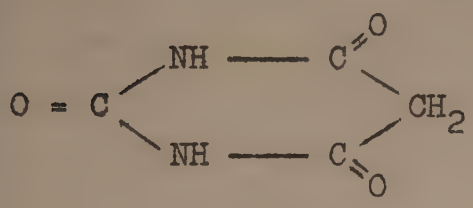
La formule développée de la morphine n'est pas encore définitive. Nous citons la formule proposée par KNORR. Le chlorhydrate de morphine cristallise en longues aiguilles incolores, soyeuses. Il est levogyre et son pouvoir rotatoire est $_D$ = - 98°4. On a noté que sa combustion ne laissait pas de résidu fixe (absence de matières minérales), et que sa dissolution dans SO_4H_2 se faisait sans coloration, ce qui indiquerait l'absence d'autres alcaloides de lépium (narcotine, codéine), ou d'impuretés comme des gommes, sucres etc... Nous avons retrouvé le spectre d'absorption décrit par MOUGENOT (73) et par RAGAEY (80). Pour les pH acides et neutres le spectre qui s'étend de 230 à 320 mμ présente une bande assez large dont la base va de 270 à 320 mμ et le sommet se trouve à 300 mμ.

Phénolphtaléine - $C_{20}H_{14}O_4$ - Produit R.A.L. de la maison Poulenc.

La constitution chimique de la phénolphtaléine est très voisine de celle de la fluorescéine, et cependant ses solutions aqueuses ne sont pratiquement pas fluorescentes. Elle se présente sous forme d'une poudre blanche, cristalline, fondant à 253°. Son spectre d'absorption est peu différent de celui de la fluorescéine et pour les mêmes raisons que pour celle-ci ne présente pas d'accidents importants.



Acide barbiturique - $C_4H_4O_3N_2$ - Echantillon de la maison Rhône-Poulenc.



C'est une poudre blanche cristalline qui fond en se décomposant. Son spectre étudié antérieurement par CASTILLE et RUPPOL (17), par GOMEZ (35), et par HENEIN (38) comporte lorsque la solution est au voisinage de la neutralité, une bande très étroite, mais très élevée avec son sommet situé à 269 mμ.

Comme nous l'avons indiqué au début de ce chapitre le spectre de fluorescence des différentes substances que nous avons étudiées est localisé dans le proche ultra-violet et le visible; le spectre de fluorescence du chlorhydrate d'hydrastinine s'étend entre 424 et 483 mμ avec un maximum à 445,5 mμ, celui des deux sels de quinine entre 352 et 440 mμ avec maximum à 382 mμ, celui de l'acide salicylique entre 350 et 440 mμ environ , celui de la fluorescéine entre 505 et 590 mμ, enfin celui de la théobromine, peu intense, entre 303 et 449 mμ avec un maximum à 320 mμ.

La forme des spectres d'absorption permet de classer les différentes substances en trois groupes : 1) le spectre d'absorption ne comporte qu'une bande bien délimitée, particularité propre à des molécules peu compliquées, acide salicylique, acide barbiturique, théobromine. 2) le spectre d'absorption présente plusieurs bandes bien accusées, trahissant par là une formule déjà plus compliquée : chlorhydrate d'hydrastinine, sels de quinine.

3) l'encombrement de la molécule est tel que [illegible] om les bandes qui composent le spectre sont peu accentuées : chlorhydrate de morphine, fluorescéine, phénolphtaléine.

Au cours du présent travail nous nous adresserons plus particulièrement à des substances de la deuxième catégorie. Des corps comme l'acide salicylique pourraient cependant présenter un grand intérêt au point de vue de la simplicité de leur formule, sur la base de laquelle des considérations théoriques risqueraient d'être plus faciles à effectuer. Malheureusement la simplicité du spectre formé d'une bande unique ne permet pas de suivre aisément les différents états que la molécule sera susceptible de prendre par le jeu de différents facteurs. Les spectres des substances de la 3e catégorie ne présentent pas plus d'intérêt à ce sujet quoique pour des raisons diamétralement opposées : la molécule alourdie par un nombre considérable de cycles est peu sensible à des variations de pH, de solvants qui comme nous le verrons plus loin, pourront nous donner de précieux renseignements. Par contre les accidents du spectre de la quinine, ou du chlorhydrate d'hydrastinine qui constituent autant de points de repère, l'existence de plusieurs fonctions compensent largement, à notre point de vue, l'inconvénient d'une molécule relativement importante.

CHAPITRE II.- RESULTATS EXPERIMENTAUX PRELIMINAIRES

En utilisant la cuve du type No 1 (voir la fig. 1) dans laquelle les solutions coulent de bas en haut suivant un régime très sensiblement laminaire, notre but était de nous mettre à l'abri d'une photolyse même partielle des molécules et éliminer ainsi une perturbation inopportune du spectre. De fait ainsi que l'indiquent les graphiques No 1 et 2 nous pouvons constater que cette précaution apparaît comme justifiée puisqu'aussi bien pour le chlorhydrate d'hydrastinine que pour le chlorhydrate de quinine on observe un décalage assez sensible du spectre sur toute sa longueur lorsque la solution devient fluente; les mêmes faits ont été vus dans l'étude du sulfate neutre de quinine.

Pour fixer les idées, nous indiquons le temps de passage d'une molécule devant la fente du spectrographe. Si l'ouverture de celle-ci est de 30/100 de mm , la tranche de solution qui est responsable de l'absorption d'un volume de 60 mm^3, étant donné que notre cuve approximativement quadrangulaire a un côté de 13 mm. Le débit étant de 240 mm3 à la seconde environ, il faudra donc à la molécule 1/4 de seconde pour passer dans le champ du spectrographe. Ce temps est cependant un million de fois plus grand que la durée de l'activation d'une molécule. Il est cependant infiniment plus faible que les durées employées pour la photolyse qui sont de plusieurs heures.

Si nous reprenons les mêmes substances, particulièrement le chlorhydrate d'hydrastinine, cette fois en le faisant écouler dans la cuve du type No 3 suivant un régime turbulent les deux courbes spectrographiques se superposent aux erreurs de lecture près. Il en a été de même dans les mêmes conditions pour la fluorescéine en solution alcaline, la théobromine, l'acide salicylique.

En réalité, il paraissait improbable que l'intensité du rayonnement ultra-violet, issu de la lampe de CHALLONGE et LAMBREY puisse être suffisant pour provoquer pendant un temps de l'ordre de la seconde une photolyse compatible avec les variations que nous avons observées dans le spectre d'absorption; et les expériences que nous avons effectuées par la suite avec la cuve du type No 3 nous incitaient plutôt à croire qu'une orientation privilégiée des molécules déterminée par le sens de l'écoulement laminaire des molécules du dissolvant devait être seule mise en cause.

Il ne nous est pas possible de faire entrer dans le cadre de ce travail l'étude de ce phénomène qui relève, en partie, de la mécanique des fluides; nous pensons en réserver l'examen dans des recherches distinctes. Aussi, pour le moment nous éviterons le dispositif à écoulement laminaire qui risque de nous placer dans des conditions par trop particulières et nous utiliserons presque exclusivement les cuves du type No 3, la cuve du type No 2 ne servant que dans les cas peu nombreux où les solutions sont très

diluées (M/100000). Pour ces deux derniers types de cuve nous pouvons admettre que les molécules de la substance sont orientées dans toutes les directions, comme c'est le cas dans une solution immobile. De manière générale, pour toutes les substances fluorescentes que nous avons mentionnées, l'excitation supplémentaire, effectuées dans les conditions que nous avons exposées précédemment, n'influe pas sur la forme du spectre d'absorption, et ne provoque pas de glissements appréciables des bandes par rapport aux longueurs d'onde. Mais pour des parties plus ou moins étendues du spectre, très souvent, pour tout le spectre il se produit un changement dans la valeur du coefficient K d'absorption. Ce changement qui, dans quelques cas, est de l'ordre de 15 % sur la valeur absolue du coefficient d'absorption, s'effectue indifféremment dans le sens d'une augmentation ou d'une diminution suivant le corps qu'on étudie et comme nous le v verrons ultérieurement pour un même corps suivant les conditions de pH dans lesquelles on se place.

Substances fluorescentes

C'est ainsi que le spectre du chlorhydrate d'hydrastinine en solution aqueuse M/10000 à pH = 6,7 subit une modification qui portant sur les trois bandes qui le composent. On note (graphique No 3) une diminution de l'absorption sur la bande la plus éloignée dans l'ultra-violet et pour laquelle le sommet se trouve à 248 mμ; par contre sur les deux autres bandes il y a une augmentation moyenne de l'absorption de 8 %; enfin la zône s'étendant entre 263 et 275 mμ est également touchée dans le sens d'une augmentation. Il semble donc que le spectre entier ait été modifié, car lorsque les courbes sont en pentes rapides la superposition devient apparente, d'autant plus facilement que le décalage est plus petit.

Le chlorhydrate basique de quinine en solution aqueuse à la concentration de M/5000, exactement comme le sulfate neutre de quinine pris à la même concentration et au même pH, à savoir pH = 2,7, est également sensible à l'irradiation. Leur spectre normal est, comme nous l'avons vu, peu différent et les modifications apportées se font dans le même sens et sont à peu près

de la même importance, bien que l'action inhibitrice sur la fluorescence des ions Cl provenant de l'acide chlorhydrique introduit dans la solution du chlorhydrate pour l'amener au pH indiqué ait été à craindre; à vrai dire les ions Cl ont été introduits en très petites quantités (environ trois à quatre gouttes d'acide chlorhydrique dans un litre de solution M/5000, ce qui fait une solution environ M/200 en acide chlorhydrique) et nous n'avons pas observé de changement notable dans l'intensité de la fluorescence de la solution. On remarque (graphique No 4) un affaissement général du spectre entre 262 et 370 mμ.

La fluorescence de l'acide salicylique en solution aqueuse est plus intense en milieu alcalin. Nous avons ainsi amené une solution d'acide salicylique M/5000 à pH = 10,4 par addition à un litre de solution de quelques gouttes de lessive de soude. Cette addition ne forme pas du salicylate de sodium, mais du salicylate sodé par saturation simultanée de la fonction acide et de la fonction phénol. Les deux PK de l'acide salicylique sont à 2,97 et 13,44. Le spectre normal n'est pas influencé dans sa forme par cette double saturation, mais l'irradiation a des effets plus marqués que sur la solution primitive. Le graphique No 5 montre une augmentation de l'absorption au sommet de l'unique bande du spectre entre 280 et 305 mμ et une diminution assez importante sur le creux situé entre 240 et 270 mμ.

Enfin la fluorescéine en solution alcaline à la concentration de M/25000 voit son spectre décalé sur toute sa longueur et dans le sens d'une augmentation (graphique No 6).

Substances peu ou pas fluorescentes

Lorsque nous passons à des substances non fluorescentes ou tellement peu fluorescentes que leur spectre de fluorescence n'a pu être déterminé (DHERE (22)) comme le chlorhydrate de morphine ou l'acide barbiturique, nos procédés expérimentaux ne nous ont pas permis de déceler une modification quelconque dans leur spectre. Pour la phénolphtaléine on a pu noter grâce à l'utilisation de notre spectrophotomètre et par la répétition de nombreuses expériences une élévation très faible de l'absorption dans la région moyenne de son spectre (graphique No 7). Le spectre de la

théobromine, qui, en solution aqueuse est très peu fluorescente, est atteint dans une zône restreinte aux alentours de 245 mμ (graphique No 8), mais la modification n'est pas très importante.

Conclusion

Il semble donc résulter que des molécules fluorescentes en solution sont sensibilisées par une irradiation vis-à-vis de leurs propriétés spectrales. D'autre part des molécules réputées non fluorescentes ou très peu fluorescentes en solution aqueuse apparaissent comme résistantes. Mais avant de généraliser et d'approfondir le problème que nous venons de poser, il nous faut écarter quelques objections.

CHAPITRE III.- DISCUSSION DES RESULTATS

Précédemment nous avons décrit les moyens qui semblaient nous mettre à l'abri d'une photolyse qu'aurait provoqué le rayonnement ultra-violet. Nous avons déjà montré que le rayonnement issu du tube de CHALLONGE et LAMBREY ne doit pas être mis en cause. A priori nous ne pouvons affirmer la même chose en ce qui concerne le rayonnement excitateur de la fluorescence qui est beaucoup plus intense.

Photolyse

La photolyse, phénomène très général, peut être facilement mise en évidence dans le cas de substances fluorescentes on sait, depuis J.PERRIN que la fluorescence est généralement détruite par un éclairement intense; PRINGSHEIM (78) spécifie que ceci ne se produit que lorsque la lumière est très intense. RAKOWER (81) indique que sous l'action d'une irradiation intense le dicinnamoylméthane, et un dérivé oxygéné de celui-ci, tous deux fluorescents en solution benzénique, donnent une réaction photochimique qui fait disparaître de leur spectre les bandes initiales. Citons enfin MATHEN et BHATNAGAR (68) qui montrent l'action favorisante de l'oxygène dans la photo-décomposition de teintures fluorescentes (éosine, uranine, érythrosine etc...). Dans un autre domaine que nous pouvons rattacher au précédent, pour ce qui nous intéresse,

les rayons ultra-violets sont utilisés depuis longtemps pour provoquer la stéréomutation des oxines; GRAMMATICAKIS (36) n'a obtenu de stéréomutation, dont il a montré la réversibilité pour ce cas, que pour l'o-méthylpropiophénone-oxime après avoir exposé une solution alcoolique du produit pendant 5 à 15 jours à la lumière totale d'une lampe à vapeur de mercure; pour les autres oximes étudiées l'irradiation était accompagnée de décomposition et de résinification plus ou moins importantes et quelquefois totales.

Afin de préciser, dans le cadre de nos expériences l'importance de l'action photolytique des rayons ultra-violets nous avons soumis une solution aqueuse de chlorhydrate d'hydrastinine M/10000 à une irradiation intense pendant une heure; l'intensité de ce rayonnement U-V est du même ordre de grandeur que celui que nous utilisons habituellement pendant l'exécution de nos spectres d'absorption. Le pH de la solution initiale qui était de 6,3 est tombé de ce fait à 5,2 et corrélativement le spectre a été déformé (graphique No 9); le sommet de la première bande qui est comprise entre 235 et 260 mμ est affaissé (10 % de la valeur du coefficient d'absorption) ainsi que toute la troisième bande entre 340 et 395 mμ (20 % de la valeur du coefficient d'absorption pour l'écart maximum); le reste du spectre est peu modifié sauf dans la région du premier creux entre 260 et 290 mμ, où l'absorption devient un peu plus intense.

La même solution de chlorhydrate d'hydrastinine, M/10000 à pH = 6,3, a été abandonnée pendant 10 jours, une partie à l'obscurité, une autre dans une région du laboratoire exposée à la lumière naturelle, toutes deux étant contenues dans des fioles bouchées. Au bout de ce laps de temps nous avons constaté que nous réobtenions à peu de chose près les mêmes courbes représentatives, sauf pour le deuxième échantillon pour lequel dans une région très étroite, entre 295 et 310 mμ (graphique No 10), il apparaît une légère diminution du coefficient d'absorption.

Nous venons de montrer que malgré sa dilution et bien qu'elle ne soit pas tamponnée, une solution de chlorhydrate d'hydrastinine est cependant stable vis-à-vis des facteurs extérieurs

(CO_2, lumière, variation de la température etc...) pendant une période appréciable; il est ainsi certain que les modifications que nous avons vues après une irradiation d'une heure sont provoquées par les rayons ultra-violets et seulement par eux. Il est donc indéniable qu'une irradiation intense et prolongée a un retentissement sur la structure de la molécule; mais particulièrement pour le chlorhydrate d'hydrastinine la modification attribuée à une photolyse pendant une heure d'insolation intense avant l'obtention du spectre est de l'ordre de grandeur (quoique différente en λ et en K) de la modification de l'absorption du fait de l'excitation de la fluorescence pendant le temps de passage de la molécule dans le faisceau lumineux, soit une fraction de seconde. Cependant comme nous allons le voir ces deux modifications ne sont pas dûes aux mêmes causes. En effet une solution fluente de chlorhydrate d'hydrastinine à pH = 6,3 M/5000 a été traitée suivant notre technique habituelle; la tranche de solution qui a été irradiée pendant l'obtention de son spectre d'absorption est reprise dans les mêmes conditions mais sans irradiation. Le spectre obtenu n'est pas perturbé; on obtient à nouveau le spectre normal de référence.

D'autre part nous avons photographié successivement la même solution immobile de sulfate neutre de quinine, amenée à pH = 9,2, alternativement avec et sans irradiation : les spectres de la solution, lorsque celle-ci n'est pas soumise à l'irradiation, sont tous identiques; ceux qui correspondent à la solution pendant son irradiation, offrent par rapport aux précédents les mêmes modifications et sont superposables les uns aux autres; ce fait a également été observé pour la fluorescéine en solution alcaline.

Tous ces faits prouvent que les quelques secondes pendant lesquelles nous soumettons nos solutions absorbantes à l'irradiation ne sont pas suffisantes pour produire une photolyse, avec tout ce que ce phénomène comporte de définitif et d'irréversible. Nous devons être en présence au contraire d'une transformation élastique, entre deux états de la molécule, l'un normal, donc stable, l'autre vraisemblablement activé et par conséquent instable. Nous serons amenés à préciser ces vues ultérieurement.

Réémission de lumière

D'autre part si ce phénomène n'est le fait que de molécules fluorescentes nous devons tenir compte de la faculté qu'ont ces molécules de réémettre de la lumière de fluorescence dans toutes les directions de l'espace et particulièrement dans la direction du spectrographe. Ces radiations viendraient perturber le spectre d'absorption en ajoutant leur énergie à celle des rayons absorbés et ainsi le spectre d'absorption résulterait de la superposition de la lumière de fluorescence et de la lumière transmise. Cependant quelques observations dont chacune est à elle seule suffisante, nous permettent d'ecarter cette objection :

Si nous prenons comme exemple le chlorhydrate d'hydrastinine, nous savons d'après ANDANT (4) que son spectre de fluorescence s'étend entre 424 et 483 mμ; en admettant que ces radiations viennent perturber le spectre elles ne pourront modifier que la partie du spectre comprise entre 424 et 483 mμ ce qui nous met assez loin de la zône du spectre dans laquelle se trouvent les bandes d'absorption touchées par le phénomène.

De même pour la quinine, le spectre de fluorescence, s'il empiète unnpeu sur l'extrémité du spectre d'absorption proche du visible, puisqu'il s'étend entre 352 et 440 mμ, est encore bien loin de la zône sensible du spectre d'absorption : le phénomène observé intéresse tout le spectre jusqu'à 260 mμ.

La réémission de lumière tend à donner au coefficient d'absorption déterminé sur la plaque photographique, une valeur apparente, inférieure à la valeur réelle. En ne tenant pas compte de ce que nous avons fait remarquer dans le précédent paragraphe, on voit par l'exemple du chlorhydrate d'hydrastinine qu'à part la région du spectre la plus éloignée dans l'ultra-violet, le coefficient d'absorption a augmenté; ceci est le cas de la fluorescéine, de l'acide salicylique et de quelques autres substances fluorescentes. Par contre le spectre du chlorhydrate de quinine en solution acide présente un affaissement de l'ordre de 10 % sur la valeur du coefficient d'absorption; mais il est improbable que le faisceau de lumière réémise, admise dans le spectrographe ait une

énergie telle que le spectre d'absorption puisse subir des modifications aussi importantes; nous n'avons pas les moyens d'apprécier exactement cette énergie, mais nous rappelons que notre temps de pose est de quelques secondes et que pour obtenir un spectre de fluorescence il est nécessaire de poser pendant plusieurs heures. Enfin comme nous utilisons pour l'irradiation toutes les radiations de la lampe à vapeur de mercure, on pourrait envisager la possibilité de l'émission d'une lumière de résonance, propriété qui est plutôt l'apanage de quelques vapeurs métalliques. Comme pour la lumière de fluorescence vraie, cette lumière de résonance tendrait à abaisser la courbe d'absorption, cette fois sur toute sa longueur. Mais les exemples du chlorhydrate d'hydrastinine, de la fluorescéine etc..., nous autorisent à écarter cette dernière objection.

QUATRIEME PARTIE

FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES

CHAPITRE I.- INFLUENCE DU pH

Dans une étude générale nous avons passé en revue les principaux moyens d'investigation que nous propose l'étude des spectres d'absorption dans l'ultra-violet et des spectres de fluorescence vis-à-vis de la structure des molécules en solution intéressées. Nous n'avons pas tenu compte dans cette étude de deux facteurs : le pH des solutions et la nature du solvant, par le jeu desquels la molécule est susceptible d'acquérir différentes formes qu'il est quelquefois possible de distinguer par le repérage de bandes ou par l'établissement d'une relation entre elles et certaines fonctions chimiques que la molécule contient.

Nous envisagerons tout d'abord le facteur pH, puis dans le chapitre suivant le facteur solvant. Nous examinerons pour chacun d'eux les rapports qui les lient au spectre d'absorption, au spectre de fluorescence et au spectre d'absorption pendant l'excitation de la fluorescence. Par la suite d'autres facteurs, la viscosité et la température seront étudiés suivant le même processus.

pH et absorption

Dans le cas d'une molécule peu compliquée il est possible de repérer grâce aux modifications de son spectre pendant les variations de pH qu'on impose à sa solution, l'apparition ou la disparition de certains des constituants qui la composent. Une solution de chlorhydrate d'aniline, par exemple, n'obéit pas à la loi de BEER, du fait de la dissociation en aniline et acide chlorhydrique; le spectre du chlorhydrate d'aniline sera donc la combinaison des trois spectres : chlorhydrate d'aniline, aniline et acide chlorhydrique. Mlle HARBERTS, HEERTJES, VAN DER HULST

et WATERMANN (37) donnent une relation entre les coefficients d'absorption de la solution manipulée K_m, du chlorhydrate d'aniline K_{aClH}, de l'aniline K_a et de l'acide chlorhydrique K_{ClH} pour une certaine longueur d'onde

$$K_m \times C_m = K_{aClH} \times C_{aClH} + K_a \times C_a + K_{ClH} \times a_{ClH}$$

où C_m , C_{aClH} , C_a , C_{ClH} sont les concentrations correspondantes.

En introduisant les poids moléculaires on arrive à l'expression

$$K_m = (1 - \alpha) K_{aClH} + \frac{93,06}{129,53} \alpha K_a + \frac{36,47}{129,53} \alpha K_{ClH}$$

de laquelle on tire le coefficient de dissociation

$$\alpha = \frac{129,53(Km - K_{aClH})}{93,06 K_a + 36,47 K_{ClH} - 129,53 K_{ClH}}$$

Comme le montrent les auteurs on peut ainsi déterminer optiquement les proportions de chacun des constituants pour une concentration donnée de chlorhydrate d'aniline et pour un pH donné; ils constatent d'ailleurs que la valeur du coefficient de dissociation α calculé de cette manière concorde avec celle obtenue à partir des mesures de pH. Dans ce cas simple on peut dire que le spectre d'absorption est le reflet de ce qui se déroule dans la solution.

Mais dans le cas d'une molécule plus compliquée, le nombre des constituants ionisables est en général difficile à déterminer, et encore faut-il que leur identité soit connue; or ceci n'est pas souvent le cas. Cependant on arrive à préciser pour de nombreuses molécules par quelles séries d'état - dont on peut fixer les limites de stabilité - elles peuvent passer ou allant d'une extrémité à l'autre de l'échelle des pH. Une méthode a été indiquée par VLES à la suite de travaux effectués sur des matières colorantes indicateurs de pH; l'étude du rapport

$$\varphi = \frac{(\text{Colog } I/I_0)_{\lambda_1}}{(\text{Colog } I/I_0)_{\lambda_2}}$$

des absorptions prises sur deux longueurs d'onde différentes permettait en effet de dénombrer les constituants supplémentaires apparus dans la solution au cours des virages; on porte simplement dans ce rapport les valeurs de colog I/I_o prises par rapport à une longueur d'onde λ_1 pour le numérateur et à une longueur d'onde λ_2 pour le dénominateur, à un pH déterminé. On choisira par exemple λ_1 dans une région où les courbes d'absorption changent peu avec le pH, tandis que λ_2 sera pris de préférence dans diverses régions importantes du spectre : les sommets, les creux, les parties ascendantes ou montantes où certains épaulements peuvent révéler la présence de certains composants.

La théorie et l'expérience montrent que si par une ionisation simple, faisant l'objet d'un équilibre défini par la loi d'action de masse, il y a un déplacement de la courbe d'absorption, ce déplacement est fonction de l'absorption de la forme acide et basique et des proportions relatives de ces formes. La courbe du rapport φ se présentera donc comme une courbe en S présentant son point d'inflexion au passage au PK caractéristique de cette ionisation. Inversement dans la marche générale des rapports φ en fonction du pH, toute inflexion de la courbe représentative pourra être attribuée à un équilibre.

Cet équilibre peut être sous la dépendance d'une fonction acide ou basique ionisée, mais il pourra se produire des équilibres sans ionisation, qui ne se manifesteront pas dans la courbe de saturation, par exemple, comme l'équilibre entre une forme à cycle et une forme à chaine ouverte.

Ces vues ont été ensuite transposées dans l'ultra-violet, assimilant certains acides organiques incolores à des indicateurs particuliers dont on pourrait suivre le virage dans l'ultra-violet. Appliquée à des corps organiques les plus divers, cette méthode permet également de tirer des conclusions intéressantes. Pour fixer les idées nous citerons comme exemple les résultats obtenus récemment par Mlle SCHUHLER (85) dans une étude de la colchicine, venant après celles de VLES et Mlle GEX (99) sur le benzène, de VLES et RUPPOL (100) sur la cocaine, de GEX (33,37) sur

l'acide levulique et l'acide phénique, de DOSS (25) sur la benzoylecgonine, de HENEIN (38) sur l'acide barbiturique etc... Mlle SCHUHLER divise le spectre de la colchicine en tranches successives et considère une série de rapports φ dont le numérateur correspond à une longueur d'onde située entre 380 et 232 mμ et le dénominateur est constamment $(\text{colog } I/I_o)_{\lambda 257\ m\mu}$.

Pour la colchicine, Mlle SCHUHLER met en évidence 10 valeurs du PK aux pH : 0,34 1,54 2,38 6,8 7,63 9,58 10,25 11,8 et 12,26 retrouvant à un PK près, ceux qui sont déterminés électrométriquement. Mettant en parallèle les variations du spectre d'absorption en fonction du pH, et l'apparition pour chacune des zônes de pH délimitées par les différents PK, de constituants distincts, Mlle SCHUHLER peut ainsi, par rapprochement, attribuer la responsabilité de certaines des bandes du spectre à certaines fonctions ou à certains groupements de la molécule; par exemple le massif le plus éloigné dans l'ultra-violet du spectre peut être attribué à celui des trois noyaux composant la molécule, auquel sont fixés trois groupements OCH_3.

Comme nous l'avons déjà indiqué dans la première partie de cet ouvrage HENEIN décompose la courbe d'absorption de l'alloxane en plusieurs bandes, attribuables à des fragments de la molécule, comme le firent auparavant BRUHAT et PAUTHENIER (14 bis) pour le sulfure de carbone. En faisant varier le pH de la solution, il est possible de suivre l'évolution des constituants, séparément, après évaluation de la hauteur et de la largeur des bandes qui les représentent, par la représentation graphique de ces deux grandeurs en fonction du pH : comme dans la méthode précédente les points d'inflexion correspondant à des constantes de dissociation. Il est donc certain qu'il existe dans le spectre ultra-violet des tranches caractéristiques des fonctions chimiques greffées sur les noyaux.

pH et Fluorescence

On sait que certaines substances fluorescentes en solution présentent des intensités de fluorescence variables suivant le pH du milieu dans lequel on les place : la quinine est très flu-

orescente aux pH acides, mais ne l'est plus au delà de pH = 9 vers les pH alcalins; au contraire la fluorescéine qui en solution aqueuse est fluorescente dans un milieu alcalin, ne l'est plus pour les pH acides et neutres. En utilisant des dissolutions de fluorescéine dans des mélanges tampons appropriés BOUTARIC et ROY (13) ont montré en effet que son pouvoir fluorescent augmente d'abord rapidement avec le pH puis de moins en moins vite et qu'il se stabilise à partir de pH = 8,6. DESHA, SHERRIL et HARRISSON (21) étudiant la fluorescence de divers acides organiques, ont remarqué un certain parallélisme entre les courbes de la fluorescence et celles de la dissociation électrolytique de ces acides faibles en fonction du pH. Des études ont été faites dans le même sens par EISENBRAND (26) sur certaines substances dont la quinine, et depuis par de nombreux auteurs sur les substances fluorescentes des plus diverses. Citons celles de BOUCHARD (8) sur des solutions aqueuses de fluorescéine de concentration invariable dont le pouvoir fluorescent varie avec le pH dans le sens indiqué par BOUTARIC et ROY, à l'exception d'un maximum qui est signalé pour un pH supérieur à 9. Cet auteur admet que ses résultats peuvent être rattachés aux considérations relatives à la dissociation électrolytique de la substance fluorescente en général. La fluorescéine, en particulier, est assimilée à un acide faible $A H_2$, caractérisé par deux étapes de dissociation correspondant aux ions $A H^-$ et $A^=$, dont le dernier serait la forme fluorescente. BOUCHARD admet, par ailleurs, que la fluorescéine ainsi que de nombreuses autres substances fluorescentes peuvent exister, à l'instar des indicateurs colorés, sous deux formes tautomères dont l'une seulement est fluorescente, à moins qu' elles ne le soient toutes deux mais dans ce cas avec des couleurs différentes : l'acridine a une fluorescence verte pour les pH inférieurs à 5,20 et bleue violacée pour les pH supérieurs à 6,60. Signalons en passant, qu'on utilise cette propriété de ces " indicateurs de fluorescence " en acidimétrie et en alcalimétrie et particulièrement lorsqu'on a affaire à des liquides colorés troubles ou non homogènes pour lesquels les indicateurs colorés ne peuvent être employés (voir les travaux de VOLMAR et de ses élè-

ves : VOLMAR et WIDDER (107), VOLMAR et CLAVERA (104), KELBER (50) - Voici des indicateurs fluorescents couramment utilisés avec le pH soit de leur changement de fluorescence, soit de l'intensité de leur fluorescence :

Acide salicylique	de pH	2,5 à 4
Erythrosine		4 à 4,5
Phloxine		2,5 à 4
Ombelliferone		6,5 à 8
Quinine		9 à 9,5
Acridine		5,2 à 6,6
ß naphtol		8,5 à 9,5
Coumarine		9,5 à 10,5
Acide α naphtionique		3,5 à 11,5

La fluorescence peut être considérablement affaiblie, sinon entièrement supprimée par l'introduction dans les solutions fluorescentes de certaines substances que l'on a appelées inhibiteurs de fluorescence. Ce mécanisme de cette extinction, dont la cause est en tous les cas différente de celle qui découle d'une variation de pH, n'est pas connu. Nous envisagerons cette question des inhibiteurs de fluorescence dans un chapitre ultérieur.

pH et absorption pendant l'excitation de la fluorescence

Nous étudierons d'abord la quinine dans les pH usuels d'emploi comme indicateur de fluorescence : fluorescente en milieu acide, non fluorescente en milieu alcalin, le pH du changement étant compris entre 9 et 9,5. Le spectre d'absorption dans l'ultra-violet du sulfate neutre de quinine est modifié notablement lorsque le pH de sa solution varie : aux pH acides il présente deux bandes assez rapprochées dont les sommets sont situés respectivement à 318 et 354 mμ. Lorsque le pH augmente pour atteindre les parages de la neutralité il subsiste une bande dont le sommet est bien accusé à 340 mμ, et il apparaît une bande centrée sur 300 mμ environ. Une fois la neutralité dépassée le spectre ne change plus beaucoup de forme on voit deux bandes bien délimitées par un creux situé à 305 mμ et qui sont centrés sur 295 à 330 mμ.

Nous avons étudié une solution de sulfate neutre de quinine M/5000 à différents pH dans les conditions expérimentales habituelles. Pour les pH acides dans la région de vive fluorescence on assiste à un affaissement de tout le spectre d'autant plus important que le pH est plus bas. Le graphique No 11 montre qu'à pH 1,5 et 2,9 la diminution moyenne de la valeur du coefficient d'absorption est d'environ 14 %. Entre pH 4,3 et 6,3 valeur la plus proche de la neutralité que nous ayons pu obtenir - car il est extrêmement difficile d'amener à pH 7 des solutions aussi diluées que celles que nous utilisons - il n'y a pratiquement pas de variation de la valeur du coefficient d'absorption, sauf dans la région proche du visible où on note une diminution dont l'importance est difficile à évaluer. Lorsqu'on franchit pH 7 pour aller du côté des pH alcalins dans la zône de faible fluorescence on observe un renversement du phénomène; en effet la modification s'effectue dans le sens d'une augmentation d'absorption. L'amplitude de cette variation varie entre 4 et 8 % suivant les régions du spectre considérées s'étendant entre 248 et 340 mμ. A pH 7,5 comme à pH 10,9 on distingue dans cet intervalle trois zônes "sensibles" : de 250 à 280 mμ, de 300 à 314 mμ et de 330 à 340 mμ; dans ces deux cas la variation du coefficient d'absorption est du même ordre de grandeur pour les régions correspondantes des deux spectres, avec toutefois des écarts plus marqués pour pH 7,5 que pour pH 10,9 : l'écart qui correspond à la longueur d'onde 250 mμ est de 8 % à pH 7,5 et de 5 % à pH 10,9. Pour un pH donné la variation du coefficient d'absorption garde à peu de chose près la même valeur dans toutes les régions du spectre.

A pH 7,5 et 10,9 comme à pH 6,3 il y a à l'extrémité du spectre, proche du visible une zône pour laquelle la valeur du coefficient d'absorption a subi une diminution; malheureusement les noirs photographiques du cliché correspondant à cette zône sont très intenses et, en raison du faible flux lumineux qu'ils laissent filtrer, ne permettent pas à la cellule photo-électrique de notre spectrophotomètre enregistreur de donner une réponse convenable; on est tout juste autorisé

à dire que cette variation existe sans qu'il soit possible d'en évaluer l'importance; nous représenterons cependant cette variation (voir graphique No 11) tout en attirant l'attention du lecteur sur le fait qu'elle ne doit pas être prise quantitativement, par une ligne en pointillés différents de ceux que nous employons pour des variations bien nettement observées.

Interprétations des résultats

Considérons pour les différentes courbes représentées sur le graphique No 11, la région du spectre correspondant au creux le plus éloigné dans l'ultra-violet et représentons graphiquement la valeur de $\frac{\Delta K}{K}$, variation relative du coefficient d'absorption, en fonction du pH (voir graphique No 12). La courbe obtenue présente deux points d'inflexion correspondant à des valeurs du pH égales à 3,5 et 7,3 avec un palier situé entre les valeurs de pH égales à 4,3 et 6,3. Nous constatons entre ce tracé et la courbe obtenue par LAPP (56) représentative des variations du pouvoir rotatoire spécifique d'une solution faite avec le même produit que le nôtre, en fonction du pH, un parallélisme marqué : la courbe obtenue par cet auteur et que nous reproduisons dans le graphique No 12 permet en effet de déceler deux PK situés respectivement à pH 3,5 et 7,2. L'accord n'est pas aussi satisfaisant avec les résultats obtenus par Mlle LIQUIER (63) qui détermine également deux PK, d'une part par un procédé électrométrique, d'autre part par un procédé optique (pouvoir rotatoire en fonction du pH) : les deux PK se trouvant situés à 4,5 et 8,3, mais nous estimons que cet écart est certainement dû à la différence de provenance des échantillons du produit. De plus il aurait été utile de connaître la variation des rapports φ de VLES (voir plus haut), en fonction du pH, mais à notre connaissance cette détermination n'a jamais été faite. Néanmoins un examen même sommaire du spectre d'absorption permet de constater qu'au cours de la variation de pH, il présente deux formes nettement distinctes; or, à l'une de ces formes correspond une diminution de l'absorption pendant l'irradiation, et à l'autre une augmentation; nous venons de voir que les deux PK déterminés par LAPP ont la même

abscisse que les points d'inflexion de notre courbe $\frac{\Delta K}{K} = f(pH)$. On peut donc penser que l'ampleur et, particulièrement pour la quinine, le sens de la variation du coefficient d'absorption sont sous la dépendance des constituants qui apparaissent au cours de la variation de pH et qui ont été mis en évidence aussi bien par la courbe de saturation que par la courbe $[\alpha] = f(pH)$. D'après cette dernière courbe, il est en effet raisonnable d'admettre que la quinine, base non ionisée existe aux pH élevés entre 9 et 12, la première ionisation apparaît à pH 7. On peut admettre que la moitié de la quinine est ionisée à cette valeur du pH, (sur PK 7), c'est-à-dire sur la seconde fonction basique. Vers pH 6 on peut admettre que l'ionisation de cette fonction est achevée; celle de la première débute alors vers pH 4,5; elle atteint la moitié des molécules à pH 4 (qui correspond à PK 4,2). Enfin aux pH très bas à partir de 2, la quinine peut être considérée comme totalement ionisée. Le graphique No 12 contient une troisième courbe illustrant d'une façon schématique la variation de l'intensité de la fluorescence, prise en unités arbitraires, de la solution de sulfate de quinine, en fonction du pH.

On voit qu'aux différents états de la molécule ne correspond pas un changement particulier de l'intensité de la fluorescence. Quand la fluorescence disparaît à pH = 9, le spectre d'absorption n'est pas affecté de cette disparition. Contrairement au pouvoir rotatoire $[\alpha]$, dont les variations suivent de très près l'ionisation des fonctions basiques de la molécule, l'intensité de la fluorescence ne paraît pas être sensible aux mêmes influences : la quinine, employée comme indicateur fluorescent voit sa fluorescence disparaître à pH = 9, dans une région où ni la courbe de saturation, ni le pouvoir rotatoire, ni le spectre d'absorption ne manifestent de variation particulière : le groupe des atomes fluororphores paraît être différent du groupe des atomes responsables de l'absorption et du pouvoir rotatoire.

Cette importante remarque prouve que le phénomène que nous observons dans le présent travail relève essentiellement de l'absorption : l'excitation de la fluorescence nous apparaît com-

me un phénomène extérieur ainsi qu'aurait pu l'être l'élévation de la température, par exemple. Si, comme le dit DOSS (24) la fluorescence du sulfate de quinine pourrait s'interpréter par une polymérisation de la substance fluorescente, l'apparition ou la disparition de la fluorescence devrait se remarquer par un changement de la forme du spectre. Or, il n'en est rien. Nous constatons en outre ce fait très important qu'à partir de pH 9, dans la zône de non-fluorescence il y a modification du coefficient d'absorption pendant l'irradiation. A première vue ceci semble en contradiction avec nos premières conclusions dans lesquelles nous établissions une relation dans les substances fluorescentes entre une modification de l'absorption et une irradiation simultanée. En seconde analyse puisque le spectre d'absorption est le même que la substance soit fluorescente ou non, de part et d'autre de pH 9, la disparition de la fluorescence peut être interprétée par un transfert d'activation à l'intérieur de la molécule sur des ions ou des groupements qui agiraient comme des inhibiteurs internes à partir de pH 9 seulement. Il ne nous est pas possible de préciser pour le moment le mécanisme de ce transfert d'activation.

CHAPITRE II.- INFLUENCE DU SOLVANT

Solvant et absorption

L'influence du solvant sur l'absorption est très grande. Toutes les expériences précédentes ont été faites sur des solutions aqueuses - solutions ionisantes par excellence - Or on sait que des molécules qui donnent des solutions électrolytes par dissolution dans les liquides ionisants (l'eau, l'alcool éthylique, etc...), présentent des changements profonds dans la structure de leurs spectres d'absorption. On les attribue aux proportions relatives de la molécule indissociée et de l'ion qu'elle émet, l'une et l'autre n'ayant pas le même spectre. Ajoutons que les substances donnant des solutions non électrolytes ne sont pas toujours d'une stabilité parfaite

si l'on s'en tient à leurs données spectrales : suivant le solvant elles sont susceptibles de subir des modifications de leur structure intérieure par isomérie tautomère et surtout par solvatation avec les molécules du solvant.

En revanche dans un solvant mauvais ionisant - c'est le cas de quelques solvants organiques comme l'hexane - les molécules se comportent comme des non-électrolytes; la molécule reste intacte. Le spectre de la solution se rapproche beaucoup de celui de la substance à l'état gazeux.

Entre ces deux cas extrêmes, liquides fortement ionisants et liquides parfaitement inertes, il existe toute la gamme des actions moléculaires qui se manifestent avec les divers solvants organiques.

Toutes ces raisons valent aussi pour le spectre de fluorescence qui est tributaire au même titre que le spectre d'absorption des divers aspects que peut prendre la molécule, ainsi que nous l'avons signalé dans le précédent chapitre lors de l'étude de l'influence du pH sur des solutions aqueuses de substances fluorescentes. Si la nature du solvant a une influence sur la position et la forme du spectre d'absorption et du spectre de fluorescence, il est logique de s'attendre à ce que les variations imposées à ces deux spectres soient parallèles. Il est reconnu depuis longtemps que la nature du solvant impose au spectre d'absorption des variations, de même qu'elle exerce une grande influence sur l'intensité et l'étendue spectrale de l'émission de la fluorescence; en travaillant sur la rhodamine 6 G extra, l'érythrosine et l'éosine B cristallisée, en solution dans l'eau, l'alcool isoamylique, l'acétone, LEWSCHIN (59) a montré dans tous les cas la symétrie des courbes d'absorption et de luminescence (intensité en fonction de la fréquence), et observé que pour des solvants différents, les deux courbes se déplacent de la même façon, la surface de la courbe d'absorption restant la même, alors que le rendement de fluorescence peut beaucoup changer.

C'est KUNDT (53) qui le premier en 1878 tenta d'établir une relation entre une propriété physique déterminée du solvant et la position des bandes du spectre d'absorption du corps dissous dans l'échelle des longueurs d'onde; il affirme qu' "étant donné deux solvants incolores dont l'un est plus réfringent ou plus dispersif que l'autre, les bandes d'absorption d'un même corps coloré dissous se déplacent vers le rouge lorsqu'on passe du second solvant au premier ". Mais cette règle souffre de nombreuses exceptions, et il est certain qu' elle doit être précisée et complétée. Comme le montre, par exemple, Mlle BRAUN (14) d'après des résultats obtenus avec l' éosine, la rhodamine B l'uranine en solution dans l'alcool, l' acétone et la glycérine, il n'y a pas de variation régulière des caractéristiques des courbes d'absorption avec les solvants, sauf peut-être pour les maxima, en fonction des indices de réfraction; comme il se trouve que la loi de BEER n'est pas toujours vérifiée, l'auteur pense qu'à partir d'une certaine concentration et d'une façon différente suivant les solvants, une partie des molécules du corps dissous peuvent prendre une forme différente des autres. L'auteur donne à l'appui de sa thèse l' exemple de la rhodamine B qui dans l'eau présenterait deux sortes de molécules distinctes. Il apparait d'ailleurs qu'il faut faire une distinction nette entre les substances pour lesquelles le changement de solvant s'accompagne d'une altération profonde du spectre, comportant des déplacements considérables de certaines bandes, des variations dans leur intensité ou leur nombre, et celles pour lesquelles le phénomène se réduit à un léger déplacement. Pour les premières KAYSER (49) admettait qu' il y a altération chimique de molécules absorbantes sous l'influence du solvant; nous venons de voir avec Mlle BRAUN qu'on peut donner une autre interprétation basée sur l'existence de deux ou plusieurs formes de la molécule. Mais, même en se limitant aux substances de la 2e catégorie, il arrive que les déplacements observés sont sans relation bien nette avec l'indice ou le pouvoir dispersif de la solution dans la région d'absorption. Néanmoins VAILLANT (92) indique dans l'étude de diverses solutions d'érythrosine que le déplacement des bandes d'absorption par changement de solvant serait dû à la différence de deux ter-

mes proportionnels, l'un à la variation d'indice, l'autre à la variation de densité; ce déplacement garde une valeur constante sur toute la largeur de la bande d'absorption de part et d'autre de celle-ci; il diminue progressivement de façon à garder une valeur appréciable à grande distance du maximum, dans la région où l'absorption est devenue très petite par rapport à celui-ci.

Solvant et fluorescence.

Dans l'étude de la fluorescence en rapport avec la nature du solvant les auteurs se sont attachés tout d'abord à comparer des intensités de fluorescence. Après KNOBLAUCH (52) LEPINE (58) publia un grand nombre de résultats qualitatifs portant sur un grand nombre de substances fluorescentes et de solvants; il conclut de ses recherches que certains solvants donnent toujours des solutions fortement fluorescentes: ce sont les alcools, l'acétone, l'aldéhyde, l'éther acétique, l'acide acétique (fluorescence nulle avec la fluorescéine et l'érythrosine qui ne sont pas fluorescentes en milieu acide); la glycérine donne des solutions moyennement fluorescentes; la pyridine, le chloroforme, le bromure d'éthylène donnent des solutions faiblement fluorescentes; le nitrobenzène et l'eau se conduisent de façon différente suivant la substance fluorescente dissoute. Il est à remarquer que vis-à-vis de l'intensité de la fluorescence de leurs solutions, les alcools méthyliques, éthyliques, isobutyliques et amylique se suivent dans l'ordre croissant ou décroissant des poids moléculaires, sauf avec l'éosine et l'érythrosine où l'ordre est altéré.

En outre l'influence du solvant est variable avec la constitution du corps fluorescent dissous : par exemple l'influence de solvants différents sur le spectre de fluorescence des dérivés du benzène à noyau unique est faible, alors que cette influence prend beaucoup d'importance pour les corps aromatiques à noyaux multiples, comme les alcaloides.

Par la suite on s'est aperçu que parallèlement à ce qu'on avait observé pour les spectres d'absorption, le spectre de fluorescence était déplacé du côté des grandes longueurs d'onde lorsque le pouvoir inducteur spécifique du solvant augmente; ceci ressort de vérifications opérées par SCHMIDT (84) de la théorie de LENARD (57) qu'on peut condenser dans sa conclusion : " Les longueurs d'onde correspondant aux maxima d'excitation de la luminescence doivent varier comme la racine carrée du pouvoir inducteur spécifique du diluant ", car le spectre d'émission se déplace dans le même sens et d'une façon analogue à la bande d'absorption dans laquelle s'est effectuée l'excitation.

La conclusion de la théorie de LENARD semble être la règle de KUNDT exprimée un peu différemment, si on tient compte de la règle de MAXWELL, qui pour un grand nombre de solvants indique que le pouvoir inducteur spécifique est égal au carré de l'indice de réfraction. Mais la règle de MAXWELL est relative à des radiations dont la longueur d'onde est infinie. Aussi dans le tableau ci-dessous (page 74) les valeurs de n qui correspondent à des radiations d'une longueur d'onde moyenne située entre le proche ultra-violet et le visible, ne peuvent donc vérifier cette loi.

Récemment BOUCHARD (9) tire d'une étude portant sur la décroissance du pouvoir fluorescent en fonction de la concentration de l'uranine, de l'éosine, du jaune d'acridine et d'une rhodamine dans divers solvants, des conclusions remarquables : 1) - le coefficient d'affaiblissement k de la formule de F.PERRIN diminue avec le pouvoir inducteur spécifique ε du solvant; antérieurement WAWILOW (109) puis Mlle WITTE (93) avaient en effet remarqué que la décroissance du pouvoir fluorescent de l'éosine et de l'uranine en fonction de la concentration était moins rapide dans les solutions alcooliques que dans l'eau.

2) pour les milieux de viscosité voisine, la valeur de la concentration correspondant à l'optimum de fluorescence, à savoir 1/k varie linéairement avec le pouvoir inducteur spécifique du solvant.

3) enfin le pouvoir fluorescent extrapolé d'une rhodamine déterminée est le même quelle que soit la nature du solvant (simple ou complexe) dans lequel on l'étudie, ce qui semble indiquer qu'on est en présence d'une loi générale et importante des solutions fluorescentes, chaque matière fluorescente pouvant être caractérisée par un pouvoir fluorescent extrapolé.

Solvants et absorption pendant l'excitation de la fluorescence

Les mêmes raisons qui nous ont poussé à ne choisir parmi les alcaloïdes ou substances chimiques que des produits dont nous connaissions l'état de pureté ont prévalu, compte tenu de leur transparence dans l'ultra-violet, dans le choix des solvants et de ce fait ne nous ont permis d'utiliser qu'un nombre relativement restreint de ceux-ci. Ce sont l'acide acétique, l'acétonitrile, l'alcool méthylique, le cyclohexane, l'hexane, la glycérine, le chloroforme, l'éther sulfurique, tous produits R.P. de la maison Rhône-Poulenc.

Notre étude a porté principalement sur la quinine (échantillon de l'Amsterdamsche Chinine Fabriek) dont, pour chaque solvant, nous avons fait des solutions de concentration identique, égale à M/5000. Accessoirement nous avons mis en expérience la fluorescéine en solution dans différents alcools (alcool méthylique, butylique). Mais avec la fluorescéine, si l'on veut obtenir des spectres d'absorption lisibles, on se trouve dans la nécessité d'opérer à de grandes dilutions : une solution M/25000 de fluorescéine contient 13,25 mg du produit par litre; or pour limiter l'erreur effectuée sur la valeur de la concentration il est nécessaire d'opérer sur de grands volumes de solvant; opération incompatible avec nos possibilités actuelles; de plus pour pouvoir la solubiliser, il a fallu opérer dans des milieux nettement basiques; or, comme le remarque LEPINE avec l'uranine (sels de sodium de la fluorescéine) si celle-ci présente une intensité de fluorescéine égale à 100 dans l'alcool méthylique, elle n'en a plus qu'une de 5,5 avec

l'alcool éthylique, résultat paradoxal qui ne peut être expliqué que par une combinaison chimique entre les trois constituants : fluorescéine, soude, solvant. Malgré ces inconvénients auxquels s'ajoute pour le spectre celui de ne pas être très accidenté et, par suite, de ne pas offrir de points de repère bien définis, nous avons effectué des essais d'où il ressort que la variation du coefficient d'absorption est en moyenne moins importante pour l'alcool butylique que pour l'alcool méthylique.

Les spectres obtenus avec la quinine dissoute dans divers solvants ont été représentés dans les graphiques No 13, 14 et 15. Tous ces spectres ont une bande commune située entre 310 et 340 mμ. Pour l'hexane, le cyclohexane, l'éther sulfurique et le chloroforme, cette bande se décompose en deux bandes secondaires, dont les sommets sont situés à 334 et 318 mμ. La solution de quinine dans l'acide acétique donne un spectre qui s'écarte des autres spectres par sa forme et la position de ses bandes : on distingue deux bandes dont l'une a son sommet situé à 354 et l'autre à 308 mμ.

Nous avons choisi pour effectuer nos évaluations comparatives de la variation du coefficient d'absorption, la région du spectre qui s'étend entre 290 et 350 mμ. Cette zône comporte un massif formé de un ou deux sommets et bordé d'un creux bien accusé du côté des courtes longueurs d'onde. Pour la solution dans l'acide acétique on considérera par analogie la région comprenant le premier sommet et le premier creux quand on va du visible vers l'ultra-violet.

L'irradiation provoque une augmentation de l'absorption dans la zône considérée pour les solutions dans l'éther, le chloroforme, l'hexane et le cyclohexane, une diminution sur le sommet et une augmentation dans le creux pour les solutions dans l'acétonitrile, l'alcool méthylique et la glycérine. Si on met à part la solution dans l'acide acétique qui présente une diminution importante du coefficient d'absorp-

tion sur une partie du spectre s'étendant entre 270 et 354 mμ, on peut d'ores et déjà séparer les solvants en deux groupes comprenant l'un, l'éther sulfurique, le chloroforme, l'hexane, le cyclohexane, l'autre l'acétonitrile, l'alcool méthylique, la glycérine. Il est à remarquer que cette séparation semble confirmée par l'allure des courbes normales d'absorption elles mêmes, qui présentent pour les liquides du premier groupe deux maxima secondaire dans la bande considérée, alors que ceux-ci sont fondus en un seul sommet pour les liquides du deuxième groupe.

Pour tenir compte des variations du coefficient de l'absorption par l'effet du solvant seul, nous avons mesuré la variation ΔK, dûe à l'excitation de la fluorescence et l'avons rapportée à la grandeur correspondante de K. Le rapport $\Delta K/_K$ exprime donc la variation relative de l'absorption du fait de l'excitation de la fluorescence.

Dans le tableau ci-dessous sont indiquées pour chacun des liquides mentionnés les valeurs de l'indice de réfraction n, du pouvoir inducteur spécifique ε, du facteur d'association défini selon l'usage comme étant le rapport de la température absolue d'ébullition à la racine carrée de la masse moléculaire, de la variation relative des coefficients d'absorption $\frac{\Delta K}{K}$ correspondant aux sommets et aux creux considérés et que nous désignons par $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_s$ et $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_c$.

TABLEAU II

	n	ε	$\frac{T}{\sqrt{M}}$	$\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_s$	$\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_c$
Hexane	1.378	1.85	36.8	+ 5,5	+ 5,5
Cyclohexane	1.429	2.02	38.6	+ 5	+ 5
Ether	1.351	4.63	35.6	+ 5	+ 4,5
Chloroforme	1.446	4.95	30.5	+ 4	+ 4
Alcool méthylique	1.329	35,4	59.6	- 3	+ 3,5
Acétonitrile	1.346	36.4	44	- 2	+ 1,5
Glycérine	1.474	43	58.9	- 2	+ 2
Acide acétique	1.272	9.7	50.3	- 5	- 5

Parmi les diverses grandeurs caractéristiques des solvants nous avons retenu en effet :

a) l'indice de réfraction n

b) le pouvoir inducteur spécifique ε directement en rapport avec le pouvoir dissociant qui s'exerce sur les molécules ionisables dissoutes.

c) le facteur d'association qui exprime au contraire la possibilité pour les molécules de se grouper en paquets et même de s'associer (solvalyse) avec les molécules des corps dissous.

On peut se demander pourquoi nous mettons successivement en rapport avec le phénomène étudié, deux grandeurs liées par une relation aussi simple que la loi de MAXWELL. Mais nous avons vu que cette loi n'est valable que pour des radiations de longueur d'onde infinie et non pas pour des radiations situées dans le domaine qui nous intéresse.

Le facteur d'association indique l'état d'association du liquide : en effet pour des valeurs comprises entre 25 et 35, il correspond aux liquides normaux, non associés; entre 35 et 40 aux liquides faiblement associés; entre 40 et 50 à des liquides associés et au delà de 50 à des liquides fortement associés. Outre que le facteur d'association rend compte que l'ouverture de la molécule donc de sa facilité de pouvoir s'associer avec d'autres molécules il est en rapport avec le pouvoir ionisant, lui-même lié comme l'ont montré ASTON et DUTTOT à la grandeur du pouvoir inducteur spécifique.

Interprétation des résultats

Nous avons tenté de mettre en rapport les valeurs de $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_s$ et $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_c$ avec l'indice de réfraction, le pouvoir inducteur spécifique et le facteur d'association. Il semble difficile d'établir un rapport quelconque avec l'indice de réfraction. Par contre, en considérant seulement le sens de la variation de X sur le sommet de la bande, nous retrouvons rassemblés dans le premier groupe de solvants les liquides à faible pouvoir inducteur spécifique et à facteur d'association compris entre 25 et 40, donc correspondant à des liquides normaux ou faiblement as-

sociés; et dans le deuxième, ceux à grand pouvoir inducteur spécifique et à facteur d'association supérieur à 40, donc correspondant à des liquides fortement associés. De plus on note sur $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_c$ une diminution constante lorsque ε augmente, alors que $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_s$ garde sensiblement la même valeur dans chacun des deux groupes pris séparément.

Dans l'étude de la quinine, un point important a pu être précisé au précédent chapitre : le spectre d'absorption dépend beaucoup de la forme de la molécule et en particulier de son ionisation, c'est-à-dire des charges induites des atomes et des variations entre leurs liaisons. Parallèlement les modifications de ce spectre pendant l'excitation de la fluorescence sont également sous la dépendance de l'état d'ionisation de la molécule : on a remarqué, en effet, de notables variations du coefficient d'absorption dans le sens d'une diminution pour une certaine zône de pH (pH acides), d'une augmentation pour une autre (pH alcalins), chacune de ces zônes correspondant au domaine d'une structure bien définie de la molécule si l'on s'en réfère à des travaux portant sur la courbe de neutralisation (Mlle LIGUIER (63)) ou sur les variations du pouvoir rotatoire spécifique en fonction du pH (LAPP (56)).

Les résultats que nous venons de mettre en évidence dans l'étude de solutions de quinine dans divers solvants apportent une confirmation à ces vues. En effet il est permis de supposer que dans les liquides normaux non associés comme l'éther sulfurique, le chloroforme, l'hexane et le cyclohexane, la molécule de quinine,puisqu'elle n'est pas ionisée et vraisemblablement non solvatée, reste identique à elle-même; le spectre de la quinine dans ces quatre solvants présente d'ailleurs les mêmes caractéristiques. Or les variations du coefficient d'absorption ΔK pour des λ identiques, ont toutes approximativement la même valeur algébrique (voir tableau II).

De même lorsqu'on s'adresse à des liquides dont les facultés ionisantes et d'association sont comparables, comme l'alcool méthylique, l'acétonitrile et la glycérine, les spectres

d'absorption de la quinine dans ces solvants sont différents des précédents, mais ont entre eux des analogies marquées; et à cette modification du spectre d'absorption (K) correspond aussi une modification dans les variations du coefficient d'absorption pendant l'irradiation (ΔK) augmentation beaucoup moins importante sur le creux et diminution sur le sommet.

Enfin pour l'acide acétique qui s'écarte des autres solvants aussi bien par le spectre d'absorption normal de la solution de quinine, que par le sens et l'importance de la variation du coefficient d'absorption pendant l'irradiation, il faut vraisemblablement ajouter à ses caractères de liquide ionisant, la possibilité qu'il a de saturer les fonctions basiques de la quinine et de favoriser en outre par son fort pouvoir d'association un phénomène de solvation.

Il semble donc que pour une molécule susceptible d'être fluorescente en solution, le sens et l'importance de la variation du coefficient d'absorption pendant l'irradiation sont sous la dépendance de l'état d'ionisation, de solvatation pris par la molécule.

CHAPITRE III.- INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

Si l'on se base sur le schéma classique que nous donne la théorie quantique à propos de l'émission de la lumière de fluorescence, il est possible de donner une explication satisfaisante de la modification apportée aux bandes d'émission et d'absorption par les variations de la température. Nous avons vu qu'il avait fallu préciser la loi de STOKES du fait de l'empiétement des bandes d'émission et d'absorption : dans cette zone d'empiétement, relativement étroite à la température ordinaire, on peut, en effet, et contrairement à la loi de STOKES obtenir une lumière de fluorescence d'une longueur d'onde inférieure à celle de la lumière excitatrice. Pour expliquer ceci on a supposé que l'agitation thermique du milieu, à la température ordinaire, n'est pas négligeable vis à vis des oscillations moléculaires provoquées par l'excitation. Un résona-

teur pourra acquérir de l'énergie, d'une part du fait de l'excitation, d'autre part du fait de l'agitation thermique. Dans ces conditions l'énergie totale dont il est pourvu permettrait l'émission d'une lumière de plus courte longueur d'onde que la lumière excitatrice (effet "antistokes"). Au zéro absolu par contre on aurait juxtaposition exacte des bandes d'émission et d'absorption correspondantes.

Dans le cas général, pour un certain équilibre thermique une proportion plus ou moins grande de molécules peuvent se trouver à un niveau d'énergie supérieur au niveau d'énergie initial au moment de l'excitation, et, de ce fait auront, pour passer à un niveau d'énergie correspondant à l'état dit d'activation, à absorber moins d'énergie; il s'ensuivra que ces molécules absorberont des radiations de plus petite fréquence, de sorte que la courbe s'étalera vers les grandes longueurs d'onde. En même temps certaines molécules peuvent garder leur énergie d'oscillation jusqu'au moment de leur désactivation avec émission; comme leur énergie interne est plus grande que celle des autres molécules qui suivent le processus normal d'émission, elles émettront des radiations de fréquence plus élevée et la bande d'émission s'étalera vers les courtes longueurs d'onde. Il est clair que ces deux phénomènes concomitant seront d'autant plus importants que la température sera plus élevée. A tel point qu'à une très haute température les bandes d'émission et d'absorption doivent être presque confondues.

Comme illustration de ce que nous venons d'exposer, citons l'étude de GIBSON et BAYLISS (34) sur le spectre d'absorption du chlore; ces auteurs travaillant entre 18° et 765° centigrades, notent que la bande d'absorption continue s'étale de plus en plus à mesure que la température augmente : si le nombre des molécules qui se trouvent à l'état de vibration fondamentale est de 93,5 pour 100 à la température ambiante, il n'en reste plus que 53 pour 100 à 765°, le reste des molécules étant distribué sur des niveaux de vibration supérieurs.

L'expérience vérifie donc dans le cas du chlore gazeux les vues théoriques que nous venons brièvement d'exposer. Avec les solutions, les choses se compliquent par suite de l'intervention de nombreux facteurs, eux-mêmes sous la dépendance de la température : dissociation électrolytique, viscosité du solvant, pouvoir inducteur spécifique, coefficient de diffusion des molécules dissoutes, exagération des domaines de fluctuation etc... Les spectres d'absorption et de fluorescence subissent alors des variations qui, bien que parallèles, ne sont pas prévisibles.

JENNESS (47) dans une étude de solutions alcooliques de rhodamine B et de dérivés de la fluorescéine, effectuée entre -60° et -80°, montre que la température produit un déplacement proportionnel du maximum des bandes de fluorescence. Ce maximum ne se déplace pas dans le même sens pour toutes les substances et si le déplacement de la bande de fluorescence se produit bien dans le même sens que celui de la bande d'absorption qui lui correspond, la largeur des dites bandes varie suivant des lois différentes. D'après SPEAS (87) les solutions alcooliques neutres de resorcinolbenzine montrent une diminution de l'absorption quand la température augmente sans qu'il y ait déplacement appréciable des bandes; pour une solution alcoolique d'uranine, l'auteur observe un déplacement de la bande vers le rouge et une augmentation de la bande quand la température est plus grande (pour l'uranine, par exemple, lorsque la température passe de 15 à 80° le maximum du spectre de fluorescence se déplace de 520 à 532 mμ tandis que le maximum du spectre d'absorption va de 502 à 510 mμ) - CHERUY (19) observe des faits analogues avec le fluoresceinate de potassium en solution dans la glycérine : la courbe d'absorption s'élargit en même temps qu'elle s'aplatit légèrement et se déplace vers les grandes longueurs d'onde. LEWSCHIN (59) montre que sur des solutions alcooliques de diverses matières colorantes (rhodamine 6 G, érythrosine, éosine), l'effet de la température est le même pour les courbes d'absorption et de luminescence, de sorte que la symétrie des deux courbes qu'il avait observée, était

maintenue; il confirme ainsi les résultats obtenus antérieurement par JENNESS; puis se plaçant dans des conditions expérimentales telles que la courbe d'émission détermine le rendement de fluorescence (absorption totale de la lumière incidente) l'auteur déduit de la constance du rapport des deux courbes qu'une modification de température affecte de la même façon l'activation et la desactivation.

Cependant BOUCHARD (10) par la détermination du coefficient d'affaiblissement k de la loi de F.PERRIN effectuée sur quelques substances fluorescentes en solution dans différents solvants, démontre que suivant les solvants, la probabilité des desactivations induites augmente ou diminue avec la température (l'intervalle de température est situé entre 0 et 80°) : en effet dans les solvants à faible pouvoir inducteur spécifique, pour lesquels l'association est très petite, l'élévation de la température, en augmentant la probabilité des rencontres entre les molécules dissoutes, favorise les dites activations induites et diminue ainsi le pouvoir fluorescent; par contre dans un liquide associé comme l'eau, où les molécules risquent de ce fait d'être rapprochées au maximum, donc d'avoir plus de possibilités de se desactiver, l'élévation de la température en diminuant l'association augmentera le pouvoir fluorescent de la substance dissoute. D'ailleurs WICK et THROOP (112) en se plaçant à de basses températures (air liquide), pensent déceler par la variation de l'intensité de la fluorescence au cours de variations de température, les variations de certaines propriétés physiques des liquides et en particulier des phénomènes d'association.

Etude expérimentale et interprétation des résultats

Nous avons opéré suivant notre méthode habituelle sur une solution aqueuse d'un sel de quinine (chlorhydrate ou sulfate), à la concentration de M/5000 et à pH = 9,8 entre les températures de 13 et 65°.

Les températures ont été déterminées au demi-degré près. La cuve et son contenu étaient placés dans une étuve et amenés à 2 ou 3° environ au dessus de la température choisie, puis

portés devant le spectrographe à l'intérieur d'une enceinte à eau à double paroi aussi bien calorifugée que possible, et adaptée spécialement à l'appareillage spectrographique, la lumière pouvant traverser la double paroi plane d'eau dans l'axe de deux tubes à angle droit, l'expérience ne durant qu'une vingtaine de secondes, on peut considérer la température comme constante pendant ce court laps de temps.

L'expérience montre que sur tout l'ensemble du spectre et dans l'intervalle de température considéré, la valeur de $\frac{\Delta K}{K}$ reste constante pour un λ donné (se reporter au graphique No 11).

Il est permis d'admettre que la température n'influe que très peu sur les différents facteurs extérieurs qui pourraient modifier l'aspect du spectre : en effet à une dilution aussi grande que celle que nous sommes contraints d'utiliser pour obtenir un spectre convenable, la dissociation électrolytique est arrivée à la limite et ne peut subir de variations notables. Le pouvoir inducteur spécifique de l'eau varie lui-même entre des limites relativement étroites. Nous l'avons calculé à partir de la formule $\varepsilon = 88{,}23 - 0{,}4044\ \theta + 0{,}001035\ \theta^2$ donnée par DRUDE et valable entre 0 et 76°. Il passe ainsi de 83 à 62 lorsque la température de l'eau varie de 13 à 65°. Etant donnée cette variation relativement peu importante du pouvoir inducteur spécifique, l'eau ne cessera dans cet intervalle de température, de manifester sa qualité dominante de liquide associant. Enfin l'élévation de la température, par une diminution de la viscosité du solvant et une augmentation de l'agitation moléculaire, favorise la diffusion moléculaire; mais si la viscosité de l'eau varie de 0,013 à 0,00408 poises, lorsque la température passe de 10 à 70°, elle n'en demeure pas moins à des valeurs faibles; et on peut admettre, tout au moins pour des solutions aqueuses et en se référant aux conclusions apportées par le précédent chapitre que la variation du coefficient d'absorption est plutôt liée à l'aspect de la molécule, lequel n'est pratiquement pas changé au cours de la petite variation de viscosité du milieu qu'à l'influence que pourrait avoir la viscosité sur l'ampleur des oscillations moléculaires provoquées par l'excitation.

Nous nous croyons donc autorisés à dire qu'une variation de la température, considérée en l'absence de toute autre influence, est sans action sur la variation du coefficient d'absorption dans l'intervalle de 13 à 65°, et vraisemblablement en dehors. Et cela est en conformité avec les résultats obtenus par LEWSCHIN. En effet si, comme le dit cet auteur, l'activation et la desactivation sont affectées dans la même proportion par une modification de la température, à un moment donné, il doit y avoir toujours le même nombre de molécules fluorescentes à se trouver au stade qui correspondrait à une modification de la structure du spectre normal. On pourrait penser que temporairement une molécule fluorescente activée peut passer, avant de se desactiver avec ou sans émission de lumière, par une forme différente de la normale. Si pour simplifier, on assimile la molécule toute entière à un résonateur, il se pourrait qu'à la suite d'un arrangement provisoire l'amplitude de la vibration soit légèrement changée dans un sens ou dans l'autre; à cette modification ne pourrait correspondre qu'une diminution ou une augmentation de la valeur du coefficient d'absorption et non pas de la période du résonateur d'absorption; seul en effet un changement de la période de vibration serait susceptible de provoquer un glissement de la bande, fait qui, jusqu'à présent, n'a pu être mis en évidence.

CHAPITRE IV.- INFLUENCE DE LA VISCOSITE

Etude expérimentale

Les variations de viscosité que l'on peut imposer à une solution aqueuse ne peuvent jouer dans un domaine où la viscosité elle-même reste très faible. Il nous a paru intéressant de faire intervenir ce facteur d'une façon plus apparente en employant des solutions de sulfate neutre de quinine dans la glycérine.

Nous avons fait varier la viscosité de nos solutions glycérinées, d'une part en faisant varier la température, d'autre

part en utilisant des mélanges d'eau et de glycérine en proportions différentes; dans l'un et l'autre cas, la modification de la viscosité ne peut manquer d'avoir une répercussion sur d'autres facteurs. Les résultats que nous obtenons à propos de l'évaluation de la modification relative du coefficient d'absorption pendant l'irradiation, confirment la complexité du problème.

Les graphiques No 16 et 17 représentent les spectres d'absorption d'une solution M/5000 de sulfate de quinine dans de la glycérine renfermant 4 % d'eau, à différentes températures s'échelonnant entre 10 et 69°. Le spectre d'absorption normal ne change pas sensiblement entre ces limites. Mais les modifications apportées par l'irradiation, peu importantes aux températures de 10 et 20°, sont assez marquées aux températures de 29 et 37°. Au delà de 37° jusqu'à 69° la variation relative du coefficient d'absorption diminue d'abord rapidement entre 39 et 55°, plus lentement au delà.

Nous avons considéré la valeur de $\frac{\Delta K}{K}$ relative à la longueur d'onde 322 mμ sur la courbe cette longueur d'onde correspond au sommet de la première bande que l'on rencontre lorsqu'on part du visible. Nous avons représenté la variation de $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_{332 m\mu}$ en fonction de la température sur le graphique No 19 à partir des chiffres qui sont consignés dans le tableau No III ci-dessous. On note aisément la présence d'un maximum pour une température d'environ 37°.

Nous avons groupé sur le graphique No 18 les courbes d'absorption normales et modifiées par l'irradiation d'une solution M/5000 de sulfate de quinine dans un mélange en proportions variables d'eau et de glycérine. Le spectre d'absorption n'est pas modifié pour les différents mélanges qui renferment de 3 à 43 % d'eau. La courbe représentant les variations de $\frac{\Delta K}{K}$ relatifs à la longueur d'onde 332 mμ en fonction de la proportion en eau, a été portée sur le graphique No 19. Sur ce graphique l'axe des abcisses sert simultanément aux températures et aux proportions d'eau entrant dans le mélange glycériné. Pour ces deux grandeurs différentes nous avons choisi l'échelle de telle sorte que pour une température, ou une proportion d'eau, la viscosité des solutions considérées soit la même.

On remarque pour cette dernière représentation graphique un net maximum qui indique que la variation du coefficient d'absorption pendant l'irradiation est la plus importante dans le cas d'un mélange à 10 % d'eau.

La situation des deux maxima que nous venons de signaler l'un sur la courbe donnant les variations de $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_{332\ m\mu}$ en fonction de la température, l'autre sur la courbe donnant les variations de $\left(\frac{\Delta K}{K}\right)_{332\ m\mu}$ en fonction de la proportion d'eau entrant dans le mélange eau-glycérine, est telle qu'ils correspondent à la même valeur de la viscosité.

D'ailleurs les deux courbes présentent un parallélisme ~~ass~~ assez marqué pour qu'il soit permis d'envisager dès maintenant un influence prépondérante de la viscosité, sur l'importance du phénomène.

TABLEAU No III

Valeur approchée de η en poises	θ	Proportion d'eau entrant dans la solution glycérinée en %	$\left(\frac{\Delta K}{K}\right)$ 332 mμ	
9	10		- 1,4	
5	20		- 1,3	
5		4		- 1,4
3,5		7		3,1
3	29		3,4	
2		10		2,6
1	37		4,0	
1		16		3,0
0,6		21		2,7
	44		3,6	
	50		3,4	
	58		2,5	
0,3		43		2,4
	61		2,4	
	69		2,5	

Interprétation des résultats

A un changement de viscosité que nous provoquons par une variation de la température, ou par des additions d'eau, ne correspond pas de variation notable dans la valeur du pH. Le pouvoir inducteur spécifique, par contre, subit des variations non négligeables : lorsque la température de la solution glycérinée varie entre 14 et 70° il passe de 44 à 34; des additions successives d'eau allant de 0 à 50 % le font croître de 44 à 64. Mais ces variations, pour importantes qu'elles soient, ne font pas sortir ce solvant du cadre des liquides dits "associés" et la meilleure preuve en est que les spectres normaux sont très peu différents les uns des autres tant par la forme que par la place des bandes d'absorption qui les composent.

Nous ne pensons donc pas que les différentes valeurs par lesquelles passe le pouvoir inducteur spécifique soient responsables des variations que nous venons de noter sur la valeur de $\frac{\Delta K}{K}$, et cela en conformité avec ce que nous avons exposé dans le précédent chapitre à propos de solutions aqueuses prises à différentes températures.

Il suffirait, en outre, de remarquer que le pouvoir inducteur spécifique de la glycérine diminue lorsque la température augmente, augmente au contraire avec la proportion d'eau introduite. Il devient alors difficile d'admettre le parallélisme des courbes du graphique No 19 si l'on pense à une influence prépondérante du pouvoir inducteur spécifique.

Nous savons d'autre part que pour les liquides visqueux en particulier, la lumière de fluorescence est habituellement polarisée : on constate, en effet, que la polarisation varie dans le même sens que la viscosité (LEWSCHIN (62)); elle tend vers une limite maximum, qui est inférieure à 50 %, pour les liquides dont la viscosité augmente indéfiniment (solvant vitreux) et devient très petite quand la viscosité est faible (eau). L'existence de cette polarisation est dûe à une anisotropie de l'ensemble des molécules émettrices au moment de leur excitation, anisotropie

qui subsiste en partie pendant la durée de l'émission : en effet, l'agitation thermique, en produisant un tournoiement irrégulier des molécules, d'autant plus rapide que la viscosité est plus faible, tendra à rétablir l'isotropie et à diminuer la polarisation.

Indiquons en passant que c'est en étudiant les variations de polarisation de fluorescence en fonction de la viscosité (dont on peut calculer l'influence sur la rapidité de désorientation des molécules par suite de l'agitation thermique que F. PERRIN a pu déterminer la vie moyenne des molécules dans l'état excité.

On pourrait se demander si la lumière de fluorescence polarisée même partiellement et superposée à la lumière incidente, ne pourrait être à l'origine des variations du coefficient d'absorption : en effet vis à vis de radiations polarisées, le système de miroirs qui entrent dans la construction de l'optique de notre spectrographe, pourrait jouer le rôle d'un analyseur; mais cette objection tombe au même titre que celle que nous avions envisagée au début de ce travail à propos de la lumière de fluorescence et pour les mêmes raisons : d'une part l'énergie mise en jeu est minime vis à vis de l'énergie du faisceau utilisé pour l'absorption; d'autre part, les longueurs d'onde de fluorescence sont situées exclusivement dans le visible et le proche ultraviolet. De plus on a vu que le coefficient d'absorption est modifié même lorsqu'il s'agit de solutions aqueuses très diluées pour lesquelles le taux de polarisation peut être considéré comme nul.

Nous devrions donc associer cette variation de $\frac{\Delta K}{K}$ en fonction soit de la température, soit de la dilution de la solution glycérinée par de l'eau, à un phénomène mécanique, en relation avec la viscosité du milieu, car on pourrait concevoir que cette variation de $\frac{\Delta K}{K}$, négative pour des viscosités importantes augmente en valeur algébrique, à mesure que la viscosité diminue, et tende asymptotiquement vers une limite. Mais la présence d'un maximum pour des solutions correspondant à une viscosité d'environs une poise nous oblige à faire intervenir autre chose que la

viscosité considérée en elle-même sans toutesfois affirmer que son influence soit nulle.

Il résulte de nombreuses recherches dûes entre autres à F.PERRIN (75), GAVIOLA (30), à Mlle BOUDIN (12) etc... que certaines substances fluorescentes présentent deux sortes de luminescences : une fluorescence vraie dont la durée d'émission reste sensiblement constante lorsque la viscosité du solvant augmente, et des phosphorescences à longue durée; ces deux phénomènes sont parfaitement indépendants.

Ces phosphorescences à longue durée ont pu être mises en évidence dans des solutions visqueuses; par exemple l'addition d'eau à une solution d'éosine dans la glycérine diminue beaucoup la durée de la phosphorescence et rend ainsi sa perception plus difficile; par contre, aux basses températures la durée de la phosphorescence augmente indéfiniment.

On se rappelle que pour la fluorescence les molécules passent brusquement de l'état normal à l'état activé et reviennent ensuite à l'état normal en émettant de la lumière; pour la phosphorescence les molécules passent du premier état activé à un second, métastable, et repassent par l'état activé pour revenir à l'état normal. Mlle BOUDIN montre dans son travail que, pour une solution au vingt millième dans la glycérine anhydre la phosphorescence est 400 fois moins intense que la fluorescence, mais sa durée de vie moyenne est 300000 fois plus grande, de sorte qu'il y a 800 fois plus de molécules dans l'état métastable associé à la phosphorescence que dans l'état activé correspondant à la fluorescence.

Il est donc possible que dans le cas qui nous intéresse, deux phénomènes différents se composent : en premier lieu l'effet de la viscosité et en deuxième lieu une certaine proportion de molécules métastables.

Il ne nous a pas été possible dans ce travail de vérifier cette hypothèse, mais on peut cependant remarquer que le nombre de ces molécules métastables tend à diminuer soit lorsque la température augmente, soit lorsqu'on ajoute de l'eau à la glycérine et cela n'est pas en contradiction avec l'analogie constatée pour les deux courbes du graphique No 19.

C I N Q U I E M E P A R T I E

FACTEURS DE STRUCTURE

CHAPITRE I.- STRUCTURE MOLECULAIRE

Si l'on excepte les recherches préliminaires effectuées sur toute une série de substances et qui forment la substance de la 3e partie de notre travail, nous avons étudié presque exclusivement le comportement d'une molécule, celle du sulfate neutre de quinine, vis à vis de différents facteurs : le pH, le solvant, la température et la viscosité du milieu.

Il est indiqué maintenant de nous préoccuper de l'édifice moléculaire lui-même, sans l'intermédiaire d'aucun facteur. Nous avons déjà vu à propos de la fluorescéine et de la phénolphtaléine, combien la présence d'un cycle supplémentaire peut avoir une grande répercussion sur certaines propriétés, et particulièrement sur les propriétés fluorescentes. Mais les deux substances ne peuvent être étudiées parallèlement que dans une zône de pH étroite : la fluorescéine n'est soluble qu'en milieu franchement alcalin; d'autre part dans la présente étude, leur spectre ultra-violet est trop peu accidenté pour présenter beaucoup d'intérêt.

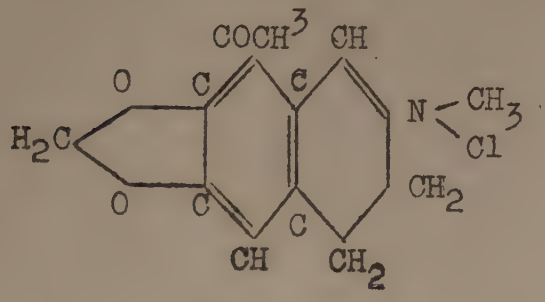
Considérations sur les spectres d'absorption de l'hydrastinine et de la cotarnine

Nous avons préféré alors nous adresser à deux corps très voisins : l'hydrastinine et la cotarnine.

La formule et les caractères de pureté de l'hydrastinine ont été indiqués précédemment (voir page 44).

La cotarnine $C_{12}H_{15}NO_4$ (échantillon de la maison SORCHAP, Paris) se présente en aiguilles incolores qui fondent à 132°. Très difficilement soluble dans l'eau, elle l'est cependant

suffisamment pour que nous ayons pu en obtenir des solutions d'une concentration de M/10000. Comme l'hydrastinine elle se présente en solution aqueuse sous trois formes isomères : hydrate d'ammonium, alcool secondaire et aldéhyde, qui donnent tous les trois avec les acides un sel dérivant de la forme hydrate d'ammonium dont nous donnons la formule développée ci-contre.



Les formules de ces deux alcaloides ne diffèrent aux dires des chimistes qui en auraient fait la synthèse que par un OCH_3 dans la cotarnine, fixé sur le noyau benzénique. Mais ce groupement OCH_3, aussi simple qu'il paraisse, n'en apporte pas moins de grandes perturbations dans les propriétés optiques - la cotarnine est beaucoup moins fluorescente que l'hydrastinine - et dans le spectre d'absorption : les deux bandes du spectre de l'hydrastinine, centrées à 307 et 375 mμ , se rassemblent pour la cotarnine en une seule bande centrée à 338 mμ. La présence du groupement OCH_3 produit donc une fusion entre des constituants de l'absorption par un rapprochement considérable et, comme le remarque EL FALLAH (27), tout se passe comme si deux vibrations différentes étaient devenues presque synchrones du fait de la présence du groupement OCH_3. La bande qui est centrée à 250mμ environ subsiste dans les deux spectres; on l'attribue au noyau benzénique.

Il semble surprenant que le groupement OCH_3, situé sur le noyau benzénique ait une influence telle sur le cycle voisin que son introduction provoque dans le spectre d'absorption les changements que nous venons de signaler, car ces changements portent uniquement sur les bandes correspondant à ce dernier cycle. Cette remarque laisse à penser que la place de ce groupement OCH_3 pourrait être revisée. Toutefois nous ne sommes pas en présence d'un cas exceptionnel, et souvent des modifications mêmes légères de la molécule entraînent des modifications importantes du spectre d'absorption.

Une étude détaillée des spectres d'absorption ultra-violet de l'hydrastinine et de la cotarnine en fonction du pH a été faite par EL FALLAH. Voici les faits principaux qui se dégagent de son étude :

Pour ces deux alcaloides la bande centrée du 250 mμ varie peu de forme au cours des variations de pH. Par contre les deux bandes centrées sur 307 et 375 mμ pour l'hydrastinine, et celle centrée sur 338 mμ pour la cotarnine sont très sensibles à une variation de pH; elles changent de forme et d'importance, mais non pas de place, excepté aux pH très alcalins (≏14) où la bande de l'hydrastinine centrée sur 307 mμ se déplace vers les petites longueurs d'onde. On voit facilement sur les courbes des graphiques Nos 20 et 21 l'aplatissement du spectre consécutif à une dimunution d'absorption lorsque le pH croit.

Ces constatations permettent alors à l'auteur d'attribuer au noyau benzénique, comme nous l'avons déjà signalé, la bande centrée sur 250 mμ, et par analogie avec le spectre d'absorption de la quinoléine, qui constitue une partie fondamentale de la molécule de ces deux corps, lui font envisager un rapport entre les deux autres bandes de l'hydrastinine - ou de l'autre bande de la cotarnine - et les états que peut prendre le double cycle. Il en résulte la possibilité de situer pour les molécules d'hydrastinine et de cotarnine les zônes de passage et de préciser les états d'équilibre soit d'ionisation, soit de migration.

On distingue principalement l'existence de trois formes : 1) - forme hydrate d'ammonium au dessous de pH 3, 2) - forme alcool secondaire, après hydratation et perte de la double liaison qui relie l'atome d'azote avec un atome de carbone voisin, jusqu'à pH 6, 3) - au delà de pH 6 forme aldéhyde, après ouverture de la chaine. Entre ces trois formes existeraient des états intermédiaires où entraineraient en jeu des liaisons secondaires soit après l'ouverture du cycle ou après le départ de la double liaison. On trouvera une représentation de ces états dans la thèse de EL FALLAH (pages 56 et 76).

Excitation de la fluorescence de l'hydrastinine pendant son absorption.

Nous avons représenté dans le graphique No 20 les étapes caractéristiques par lesquelles passent le spectre d'absorption ultra-violet du chlorhydrate d'hydrastine lorsqu'on fait varier le pH. Elles sont au nombre de 4 et correspondent aux pH 2,6, 6,7 10,5 12,2.

Il ne nous a pas été possible d'enregistrer au spectrophotomètre enregistreur toute la courbe d'un seul trait. Les conditions d'enregistrement bonnes pour la région comprise entre 260 et 450 mμ ne le sont plus pour la région correspondant à la bande centrée sur 250 mμ, car dans cette région les noirs photographiques sont considérablement moins intenses que dans la précédente, et la réponse de la cellule photoélectrique n'est plus satisfaisante. Aussi pour la région comprise entre 234 et 260 mμ nous avons repris l'enregistrement avec un éclairement beaucoup plus faible que dans l'opération normale, pour nous trouver dans les conditions optima d'utilisation de la cellule photoélectrique. On ne sera donc pas surpris de voir un raccord sur chacune de ces courbes aux environs de 260 mμ. La position relative des sommets de la bande centrée sur 250 mμ d'une part, et des bandes centrées sur 307 et 375 mμ d'autre part, n'est donc pas l'expression de la réalité, mais ceci importe assez peu car nous effectuons des évaluations relatives de grandeurs représentées toujours dans les mêmes conditions.

Considérons la bande centrée sur 250 mμ. L'excitation de la fluorescence pendant l'absorption produit une modification du spectre, soit dans le sens d'une augmentation, soit dans le sens d'une diminution, et cela alternativement quand on va de pH 2,6 à pH 12,2. Toutes ces variations, en valeur absolue, sont du même ordre, soit 5 % environ.

Si l'on excepte la bande centrée sur 250 mμ, le spectre d'une solution d'hydrastinine portée à pH 12,2 n'est pratiquement pas modifié pendant l'irradiation. Par contre pour les trois autres valeurs de pH que nous retenons, on peut noter

dans l'espace compris entre 260 et 455 mμ, deux régions :
a) la région s'étendant entre 265 et 295 mμ. Elle subit un déplacement vers le haut d'autant plus important que le pH est plus bas.
b) la région qui comprend les deux bandes centrées sur 307 et 375 mμ et qui s'étend entre 300 et 400 mμ. A pH 2,6 il y a affaissement sur toute la longueur de la zône considérée. Aux pH 6,7 et 10,5 il y a au contraire exhaussement : uniquement sur les sommets à pH 6,7 et sur toute la portion de courbe à pH 10,5.

Il est possible d'établir une correspondance entre les variations observées dans la région comprise entre 300 et 400 mμ et les formes que prend la molécule. Il suffit de nous référer aux travaux de EL FALLAH pour constater qu'à pH 2,6 il s'agit de la forme hydrate d'ammonium, tandis qu'à pH 6,7 nous avons affaire à la forme alcool secondaire par suite de la disparition de la double liaison qui existait entre l'atome d'azote et l'atome de carbone voisin; qu'à pH 10,5 il y a eu ouverture du cycle et apparition de la forme aldéhyde et qu'enfin à pH 12,2 les constituants qui correspondent aux deux bandes paraissent altérés. Pour cette valeur de pH ces deux bandes sont très atténuées et corrélativement il ne paraît pas y avoir de modification du spectre d'absorption pendant l'irradiation.

On aurait pu s'attendre à ce que la bande centrée sur 250 mμ, puisqu'elle est attribuée au noyau benzénique - lequel est particulièrement stable tout au long des variations de pH - et en admettant qu'elle puisse être le siège d'une modification dûe à l'irradiation, ait son intensité modifiée sensiblement dans les mêmes proportions et en tous les cas dans le même sens pour les différents pH considérés. Nous avons vu que ce n'est pas le cas.

Il semble que toutes les parties de la molécule sont étroitement solidaires et il est vraisemblable que le noyau benzénique en subissant le contre-coup des modifications apportées au cycle voisin, soit acquéreur vis à vis de l'irradiation de propriétés différentes suivant les formes de la molécule, ce qui se

traduit dans le spectre d'absorption par des variations dans un sens ou dans l'autre..

Excitation de la fluorescence de la cotarnine pendant son absorption.

L'étude de la cotarnine va d'ailleurs compléter ces quelques remarques. On a vu que les molécules de cotarnine et d'hydrastinine présentent les mêmes formes au cours des variations de pH de leurs solutions. Les courbes d'absorption normales et modifiée. par l'irradiation de la cotarnine sont représentées dans le graphique No 21 pour les pH 2,1 7,2 8 et 12,5. Ces courbes représentent les quatre types de courbes rencontrées au cours de cette étude. Comme pour l'hydrastinine elles correspondent à des états bien définis de la molécule : à pH 2,1 forme hydrate d'ammonium, à pH 7,2 forme alcool secondaire, à pH 8, après rupture du cycle, forme aldéhyde avec possibilité d'une liaison secondaire reliant l'atome d'oxygène de la fonction aldéhyde et l'atome d'hydrogène qui est fixé sur l'azote, à pH 12,5 forme aldéhyde.

Nous considérerons dans le spectre deux zones : a) la première s'étend entre 227 et 260 mμ ; elle englobe la bande centrée sur 250 mμ bande qui a certainement la même origine que la bande correspondante du spectre de l'hydrastinine,
b) la deuxième comprend la bande centrée sur 338 mμ. L'irradiation introduit dans la valeur du coefficient d'absorption des modifications qui sont invariablement dans le sens d'une augmentation pour la première de ces régions; nous rappelons que la bande qui forme cette région a été attribuée par EL FALLAH au noyau benzénique.

Le creux qui est situé entre les deux bandes principales subit également une variation vers le haut; elle est plus importante aux pH acides qu'aux pH alcalins, mais néanmoins reste dans le même ordre de grandeur.

La bande centrée sur 338 mμ est le siège de modifications d'importance et de signe différents : augmentation d'environ 4 % du coefficient d'absorption à pH 2,1. Aucune modification à pH

7,2; il semblerait cependant qu'il y ait un très léger affaissement du sommet de la bande; nous n'avons pas jugé bon d'indiquer cette variation sur le graphique en raison de son caractère incertain. Augmentation de 3 % à pH 8; et enfin diminution de 3 % environ à pH 12,5.

Interprétation des résultats

La réaction de la molécule de cotarnine vis à vis de l'excitation est très différente de celle de l'hydrastinine, mais elle apparaît comme plus conforme à la représentation qu'on s'est faite d'elle au cours de la variation de pH. La molécule ne subit de modifications que d'un côté : celui qui est formé par le cycle à allure pyridique. Or c'est ce cycle qui en union avec le cycle benzénique voisin, est responsable de la bande sur laquelle les variations du coefficient d'absorption semblent suivre les différentes formes prises par la molécule. Mais bien qu'on admette que cette bande provient de la fusion des deux bandes de l'hydrastinine centrées sur 307 et 375 mμ, les variations du coefficient d'absorption observées sur ces deux bandes pour certaines formes de la molécule d'hydrastinine, ne semblent pas se conjuguer dans l'unique bande pour les formes correspondantes de la molécule de cotarnine. A pH 2,6 par exemple on a vu un affaissement des deux bandes du spectre de l'hydrastinine, tandis qu'à pH 2,1 lorsque ces deux bandes sont confondues en une seule dans le spectre de la cotarnine, il y a exhaussement. D'autre part le cycle benzénique de la molécule de la cotarnine ne semble prendre aucune part aux changements qui interviennent dans le cycle voisin. La bande qui lui correspond est modifiée toujours dans le même sens et à peu de chose près toujours de la même quantité. On a vu que pour la bande correspondante de l'hydrastinine, le phénomène est tout différent et qu'à chaque forme de la molécule correspond une variation dans des sens différents du coefficient d'absorption.

Il semble alors que le groupement OCH_3 qui est fixé au cycle benzénique joue le rôle d'une cloison entre celui-ci et le cycle voisin à allure pyridique, cette cloison leur permettrait ainsi de réagir vis à vis de l'excitation, chacun indépendamment de l'autre.

On remarque de plus un parallélisme marqué entre les variations du coefficient d'absorption de part et d'autre de la bande de l'hydrastinine centrée sur 250 mμ et celles de la bande de la cotarnine centrée sur 338 mμ et cela pour des formes moléculaires correspondantes. Or ces deux bandes n'ont absolument pas la même origine, comme on l'a vu précédemment. C'est pourquoi on peut supposer qu'en l'absence du radical OCH_3 le noyau benzénique constitue un prolongement des oscillations - différentes suivant les cas - qui sont imposées par l'irradiation au cycle voisin et qui se traduisent par une modification de la partie correspondante du spectre.

En résumé il correspond aux quatre formes isomères que prennent l'hydrastinine d'une part, la cotarnine de l'autre des variations du coefficient d'absorption bien déterminées. Celles-ci semblent être simplifiées dans le cas de la cotarnine par suite de la présence du groupement OCH_3 qui permettrait d'observer séparément le comportement de chacune des parties de la molécule vis à vis de l'irradiation.

Nous voyons donc une relation indubitable entre l'état de la molécule, et le sens et l'ampleur du phénomène issu de l'irradiation, ce qui est une confirmation de nos résultats précédents. On croit, en outre, que l'introduction d'un radical même peu important, est décelé par un bouleversement complet des résultats obtenus par l'excitation.

CHAPITRE II.- ACTION DES INHIBITEURS

Le problème de l'inhibition de la fluorescence

Nous avons déjà signalé la complexité du problème de l'inhibition de la fluorescence. L'inhibition est particulièrement intéressante à considérer parce qu'elle paraît constituer un moyen de préciser le mécanisme de la fluorescence.

En 1852 STOKES (88) remarque que l'introduction d'un acide halogéné, ou de chlorure de sodium dans une solution de sel de quinine provoque une extinction de la fluorescence. Par la suite

des recherches systématiques ont permis d'aboutir à des vues plus générales.

On a observé que lorsqu'on ajoute de l'iodure de potassium à une solution de fluorescéine alcaline, la fluorescence tend vers zéro. L'iodure de potassium agit de façon analogue sur toutes les substances fluorescentes, et cette propriété d'inhiber les fluorescences les plus diverses est possédée par un grand nombre de substances. Parmi les sels citons : les iodures, les sulfures, les sulfocyanures, les hydrosulfites, alors que les nitrates et les sulfates sont sans action; les chlorures et les bromures sont peu ou pas actifs en milieu alcalin, mais agissent fortement en milieu acide (par exemple sur le sulfate de quinine). Si l'on prend les sels de sodium, de potassium et d'ammonium à des concentrations moléculaires égales,on voit que ceux-ci ont des pouvoirs inhibiteurs équivalents; l'inhibition n'est donc dûe qu'à l'anion. Mais comme le remarque BOUCHARD (11) un inhibiteur n'a pas forcément un caractère universel : certains électrolytes inactifs vis à vis de l'uranine et de l'éosine, se comportent comme des inhibiteurs à l'égard du jaune d'acridine et de la rhodamine B. De même parmi les substances organiques, les phénols, les amines nucléaires, les dérivés sulfo-iodo, et nitro conjugués etc... sont des inhibiteurs puissants, tandis que les alcools, les cétones sont sans action. Enfin de nombreux alcaloides ont également des propriétés inhibitrices.

VOLMAR et MATHIS (103, 105, 106) ont pu déterminer la concentration de la substance inhibitrice entrainant la suppression de toute fluorescence visible d'une solution de nitrate d'uranyle; malheureusement cette détermination n'est pas possible avec des matières colorantes fluorescentes, car pour celles-ci l'extinction est rarement totale, même pour des concentrations importantes d'inhibiteur.

De l'ensemble de toutes ces observations il se dégage une conclusion importante : d'une façon générale ce sont presque toujours les composés "antioxygènes" qui inhibent la fluorescence. On cite cependant des composés organiques antioxygènes qui

ne sont pas inhibiteurs. Un résultat obtenu par ACHARD, BOUTARIC et BOUCHARD (1) paraît constituer l'un des arguments les plus convaincants en faveur de la conception liant les propriétés inhibitrices à l'égard de la fluorescence et les propriétés "antioxygènes" : en effet, tandis que les alcaloides ordinaires se comportent comme des inhibiteurs à l'égard de la fluorescence des solutions d'uranine, les génalcaloides ne possèdent pas cette propriété : ce ne sont pas des "antioxygènes" car ils résultent du blocage de la fonction amine tertiaire de certains alcaloides par un atome d'oxygène, en formant ainsi une fonction aminoxyde R = N = O.

L'action de tous ces inhibiteurs est conditionnée par la viscosité du milieu. L'expérience prouve qu'à concentration égale les inhibiteurs agissent beaucoup moins en milieu visqueux. Une étude détaillée de la question a été accomplie par SVESHNIKOFF (89, 90) (extinction de la fluorescence 1°) de la fluorescéine par l'iodure de potassium dans des mélanges eau-glycérine, dans des solutions sucrées, 2°) de la rhoduline rouge par de l'aniline dans divers alcools, 3°) de la rhodamine B dans divers solvants). A part quelques exceptions dans le cas de certains solvants comme l'éther, l'acétone, le chlorobenzène, l'alcool allylique, la benzaldéhyde, les acides acétique et lactique - exceptions qui tiendraient à l'intervention d'autre chose que la viscosité, comme la durée de vie des molécules activées et l'énergie d'activation, grandeurs qui varient d'un solvant à l'autre - l'auteur montre que la suppression de la fluorescence est liée effectivement à la viscosité du solvant.

LEWSCHIN (65) distingue deux types d'extinction de la fluorescence : il y aurait une extinction interne dûe à une modification des propriétés des oscillateurs, que l'auteur rend responsables de l'émission, et une extinction externe provoquée par l'action de facteurs étrangers sur l'oscillateur non modifié. Dans le premier cas les spectres d'absorption et de fluorescence varieraient tous les deux suivant la loi de symétrie, tandis que dans le second, le spectre d'absorption resterait constant pendant que le rendement du spectre de fluorescence de forme invariée diminuerait.

Dans la première partie de ce travail nous avons déjà mentionné les vues de J.PERRIN et F.PERRIN concernant les desactivations induites, grâce auxquelles ces auteurs expliquent la diminution du pouvoir fluorescent par le jeu de résonances, soit entre les molécules de même espèce, donc de même période d'oscillation, lorsqu'il y a augmentation de la concentration, soit entre les molécules différentes mais de fréquence d'oscillation voisines. Mais lorsqu'on ajoute de l'iodure de potassium à une solution de fluorescéine, la courbe d'absorption de cette dernière n'est pas changée, et cependant la fluorescence diminue. F. PERRIN admet alors que la diminution du pouvoir fluorescent résulte encore d'une desactivation induite des molécules activées; comme dans ce cas aucune condition de résonance n'est nécessaire il appelle ce phénomène "induction forcée". On peut ainsi expliquer pourquoi dans un milieu très visqueux l'inhibiteur est moins actif : dans un tel milieu où les diffusions sont ralenties, une molécule de la substance fluorescente qui n'a pas dans son voisinage immédiat, au moment de son activation une molécule inhibitrice, n'aura aucune chance d'être desactivée par une telle molécule. Au contraire dans un milieu moins visqueux les chances qu'aura une molécule d'être au voisinage d'une molécule inhibitrice avant d'avoir réémis un quantum de lumière, sont augmentées, car l'agitation thermique produira des déplacements plus rapides des molécules dissoutes.

Comme LEWSCHIN, F.PERRIN admet un autre type d'extinction : l'extinction interne qu'il explique par une desactivation induite à l'intérieur de la molécule. Lorsqu'on substitue dans une molécule de fluorescéine alcaline un nombre croissant d'halogènes, les corps successivement obtenus sont de moins en moins fluorescents : par exemple l'érythrosine ou tétraiodofluorescéine est moins fluorescente que l'éosine ou tétrabromofluorescéine, qui l'est beaucoup moins que la fluorescéine. PRINGSHEIM rejette l'existence d'une extinction interne et admet plutôt que les "couleurs halogénées" ont un caractère acide qui accroit leur interaction avec les molécules d'eau environnantes; ce seraient celles-ci qui prendraient l'énergie d'activation.

De nombreuses autres hypothèses, tendant à expliquer le mécanisme de l'inhibition de la fluorescence, ont été émises et discutées et particulièrement au congrès temu en Angleterre en 1939 sur la fluorescence et dont les " Transactions Faraday Society " ont donné un compte-rendu la même année.

Nous retiendrons à cause de son originalité la théorie proposée par WEISS (111) dans laquelle cet auteur identifie le processus élémentaire d'extinction avec celui d'une réaction photosensibilisée; comme dans tous les autres cas, l'extinction est dûe à une transition électronique sans émission de radiation, mais cette radiation a lieu dans un complexe formé entre la molécule excitée et un accepteur qui peut être une molécule ou un ion. Il se forme alors un composé oxydé avec l'accepteur et réduit avec la molécule fluorescente. WEISS donne l'exemple du violet de LAUTH dont la fluorescence est éteinte par les ions I^- réaction qui est réversible à l'obscurité. En désignant par C le colorant et C^* le colorant activé, il schématise la théorie de la fluorescence et de son extinction par les ions halogènes dans les trois équations :

$$C + h\nu = C^* \quad \text{activation}$$

$$C^* = C + h\nu \quad \text{émission de lumière de fluorescence.}$$

$$C^* + \text{accepteur} \rightleftharpoons C^- + \text{Accepteur}^+ \quad \text{inhibition.}$$

Lorsque le processus d'extinction a lieu en présence d'oxygène moléculaire, les réactions se présentent de la façon suivante :

$$\begin{array}{ccc} & h\nu & \\ C & \rightleftharpoons & C^* \\ O_2 \uparrow & & \downarrow + \text{accepteur} \end{array}$$

leucol —— accepteur oxydé

Ce schéma est étayé par des exemples entre autres l'oxydation de sels uraneux.

Résultats expérimentaux

L'étude de l'inhibition de la fluorescence, exécutée dans le cadre de notre travail, s'est révélée très malaisée. En effet dans le cas général, les phénomènes d'inhibition sont nettement marqués pour des concentrations en inhibiteurs relativement très fortes - de l'ordre de 1 gr. par litre. Or, même avec des inhibiteurs qui ne présentent pas de bandes d'absorption dans la région de l'ultra-violet que nous explorons, les solutions chargées d'inhibiteur absorbent une grande partie de l'énergie du faisceau responsable de l'absorption de sorte que nous obtenons des spectres moins étendus et très clairs; nos mesures deviennent incomplètes et difficiles. Au lieu d'obtenir le spectre de fluorescéine jusqu'à 239 mμ l'addition de iodure de potassium à la concentration de 1 gr. par litre nous permet d'atteindre 263 mμ seulement.

Nous avons néanmoins examiné l'action de l'iodure de potassium sur une solution M/25000 de fluorescéine alcaline. La solution obtenue ne présente presque plus de fluorescence lorsque la dose de l'inhibiteur atteint un gramme par litre. Nous réobtenons le spectre normal de la fluorescéine (voir graphique No 6) mais jusqu'à 263 mμ. Le spectre d'absorption pendant l'irradiation subit un déplacement vers le haut; ce déplacement est nettement moins important que celui qui a été représenté lors de l'étude de la solution M/25000 de fluorescéine, exempte d'inhibiteur : environ la moitié.

D'autre part nous avons mis en expérience l'érythrosine. Cette substance dont la fluorescence serait éteinte par la présence dans sa molécule de 4 atomes d'iode a été étudiée à la concentration de M/25000. L'échantillon que nous avions provenait de la maison Rhône-Poulenc. Le spectre d'absorption ultraviolet de cette substance est très voisin de celui de la fluorescéine. Il est notablement modifié sur toute sa longueur lorsqu'on irradie sa solution pendant l'absorption à peu de chose près dans les mêmes proportions et de la même façon que celui de la fluorescéine prise dans les mêmes conditions.

Ces quelques résultats, auxquels nous espérons en ajouter d'autres, lorsque nous pourrons améliorer notre technique spectrographique, ne sont pas suffisants pour que nous puissions en tirer des conclusions générales.

A première vue il semblerait qu'inhibition interne et inhibition externe ne doivent pas s'effectuer suivant un processus similaire puisque les résultats que nous obtenons avec l'un ou avec l'autre des inhibiteurs ne sont pas concordants. Mais il ne faut pas perdre de vue le fait que l'introduction d'un électrolyte en quantité importante dans une solution diluée du corps absorbant ne peut manquer de changer certaines propriétés physiques du solvant, la viscosité par exemple. Or précédemment nous avons vu l'influence de ce facteur sur l'ampleur du phénomène observé. On peut rapprocher cependant ce qui se passe pour l'érythrosine de ce que nous avons noté à propos du sulfate de quinine en solution nettement alcaline. Dans les deux cas il faut penser à un transfert d'activation à l'intérieur de la molécule, transfert au cours duquel la fluorescence serait empêchée.

S I X I E M E P A R T I E

MODIFICATIONS DANS L'EXCITATION

Nous avons déjà exposé dans la première partie de ce travail les relations les plus importantes qui existent entre l'excitation et l'émission de la fluorescence. WAWILOW a proposé une loi d'une application restreinte comme l'ont montré entre autres BOARDMANN et VLES par l'étude de nombreuses substances fluorescentes.

Dans l'étude de douze composés de l'uranium BOARDMANN (6) détermine les bandes d'excitation en mesurant au moyen d'un spectrophotomètre sensible la densité des plaques en fonction de la longueur d'onde. Après reproduction des courbes obtenues l'auteur note 35 à 105 maximum pour chaque composé. La comparaison avec les spectres d'absorption montre un accord étroit; dans chaque cas une bande d'absorption correspond à une bande d'excitation. A cause de cette correspondance BOARDMANN admet que les bandes d'excitation peuvent être prises pour des bandes d'absorption et de ce fait le spectre d'absorption déjà connu peut être considérablement étendu à la fois vers le rouge et l'ultra-violet. La comparaison de ces bandes avec le spectre de fluorescence indiquerait des régions d'inversion où la lumière de fluorescence effacerait le spectre d'absorption. D'ailleurs certaines bandes de la courbe d'excitation manquent dans le spectre d'absorption. BOARDMANN ne peut cependant pas expliquer le "trou" qu'il observe dans l'excitation de la fluorescence de l'acétate triple d'urane, de cobalt et de sodium : pour cette substance, en effet, l'excitation de la fluorescence n'a pas lieu entre 325 et 330 mμ.

Remarquons que BOARDMANN a pris comme base de comparaison les spectres d'absorption obtenus par NICHOLS et HOWE selon la méthode spectrographique habituelle, c'est-à-dire en éclairant la cuve par un faisceau de lumière composée, alors que les courbes obtenues par lui sont tracées point par point puisqu'il ex-

cite la substance fluorescente successivement avec toutes les longueurs d'onde. Un défaut d'homogénéité apparaît dans cette comparaison qui aurait peut être gagné a être effectuée avec un spectre d'absorption obtenu également point par point, par la méthode photoélectrique par exemple. On s'est aperçu récemment que, selon qu'on opère avec l'une ou l'autre de ces deux méthodes, les spectres d'absorption obtenus ne sont pas toujours concordants. BONNEMAY et VERDIER (7) ont signalé semblable divergence dans les recherches qu'ils ont faites sur les azotures et l'acide azothydrique, et il semble que ce phénomène, non encore expliqué, soit général. On peut cependant concevoir qu'un résonateur oscillera différemment suivant qu'il sera excité seul, ou en même temps qu'une partie ou que l'ensemble de tous les autres résonateurs qui peuvent exister dans la molécule considérée.

Résultats expérimentaux

C'est pour cette raison que l'excitation monochromatique semble devoir présenter un intérêt évident dans l'étude que nous avons entreprise. Malheureusement le monochromateur, en absorbant une partie importante de l'énergie du faisceau d'excitation, ne permet pas une excitation intense : les variations du coefficient d'absorption sont alors très faibles et il devient impossible de les déceler avec sûreté. Cette étude ne pourra être abordée avec fruit que lorsque nous aurons à notre disposition une source excitrice plus intense, et un montage spectrophotométrique qui nous permettra d'effectuer des lectures de clichés plus fixes.

A ce moment il nous sera également possible de jouer sur l'intensité du rayonnement excitateur pris, soit dans tout son ensemble, soit monochromatiquement, pour étudier les variations relatives du coefficient d'absorption qui en découlent. On peut d'ores et déjà, s'attendre à ce que ces deux valeurs varient dans le même sens.

Nous avons cependant, à défaut de mieux, obtenu quelques résultats intéressants en irradiant des solutions de sulfate

neutre de quinine par le rayonnement qui filtre à travers le verre de WOOD. Celui-ci laisse passer les radiations voisines de 365 mμ longueur d'onde qui se trouve être située dans une bande d'absorption de toutes les substances que nous avons étudiées.

Les modifications du spectre d'absorption produites par cette irradiation monochromatique sont nettes. Pour les mêmes valeurs de pH, elles s'effectuent dans le même sens et aux mêmes endroits de la courbe d'absorption que lorsqu'on utilise tout le rayonnement de la lampe à vapeur de mercure (voir graphique No 11). Les déplacements observés sont cependant moins importants, nous avions noté un déplacement de 14 % à pH 2,9; les rayons filtrés par le verre de WOOD provoquent un déplacement moyen de 10 % environ.

Il nous semble imprudent de vouloir tirer de cette seule constatation des conclusions certaines. De même que les radiations qui se trouvent dans une bande d'absorption sont celles qui, sauf exception, excitent la fluorescence, de même ces radiations doivent être responsables des modifications apportées au spectre d'absorption lorsque celles-ci excitent la fluorescence de la substance pendant son absorption. En effet, le spectre d'absorption est modifié presque autant par les radiations filtrées par le verre de WOOD que par l'ensemble des radiations que fournit la lampe.

Nous ne pouvons pas dire que les radiations situées dans la bande d'absorption ont une action privilégiée, que l'importance du phénomène observé a donc un rapport quelconque avec l'intensité de la lumière de fluorescence qui, comme on le sait, dépend de la longueur d'onde de la radiation excitatrice.

Signalons enfin que lorsqu'on irradie la solution avec une tranche de radiations relativement étroite comme celle que laisse passer le verre de WOOD, le phénomène intéresse cependant tout le spectre d'absorption. En se référant aux vues de V. HENRI et R.WORMSER que nous avons exposées dans la première par-

tie de ce travail, on pourrait penser que les rayons compris dans une zone située dans une bande d'absorption sont susceptibles d'amener des molécules en un état de prédissociation. A cet état pourrait correspondre un comportement différent de la molécule vis à vis de l'absorption.

Nous espérons étendre cette étude dans des recherches ultérieures.

S E P T I E M E P A R T I E

CONCLUSIONS

Après avoir exposé les grandes lignes des principales théories de l'absorption lumineuse et de la fluorescence, nous avons montré les résultats que ces théories permettent d'obtenir dans la connaissance de la structure atomique moléculaire; on est arrivé à avoir des vues précises sur la forme et les dimensions de certains atomes et de certaines molécules que dans des cas peu nombreux, particulièrement lorsque les atomes et les molécules sont à l'état de vapeur; mais le problème est loin d'être éclairci dans le cas général des liquides et des solutions; de nombreuses lois ont été proposées pour tenter d'établir une relation entre l'existence de certaines bandes d'absorption et de fluorescence et la présence de certains groupements chimiques, et aussi pour situer la position de ces bandes en fonction de certains facteurs : pH, température, nature du solvant etc... On peut dire qu'aucune de ces lois ne peut être généralisée. Néanmoins des résultats substantiels ont été obtenus.

Nous avons pensé que dans le cas des substances fluorescentes, une excitation importante de leur fluorescence pendant l'obtention de leur spectre d'absorption pourrait entrainer une modification de ce spectre d'où il serait possible de tirer des renseignements sur le comportement et la configuration des molécules de ces substances en solution.

Ces recherches ont nécessité la mise en oeuvre d'un spectrographe à optique de quartz, de cuves spéciales à glaces de quartz et d'un spectrophotomètre enregistreur; ces dispositifs expérimentaux, les techniques qui s'y rapportent sont décrits en détail dans la deuxième partie de ce travail.

Le spectre d'absorption de substances fluorescentes comme l'hydrastinine, la quinine et ses sels, l'acide salicylique, la fluorescéine sont modifiés lorsqu'on excite la fluo-

rescence pendant l'obtention du spectre d'absorption. Les spectres d'absorption de quelques corps non fluorescents comme la théobromine, la morphine, l'acide barbiturique, la phénolphtaléine, excités dans les mêmes conditions ne sont pas ou peu modifiés.

Une irradiation a donc une action sensibilisatrice vis à vis des propriétés spectrales des molécules fluorescentes.

Les déplacements observés dans le spectre d'absorption peuvent intéresser a priori la position des bandes dans l'échelle des longueurs d'onde ; de tels déplacements n'ont pu être décelés. Seules des variations portant sur la valeur du coefficient d'absorption ont été vues soit sur des portions bien délimitées du spectre soit sur tout le spectre suivant les corps étudiés et pour chaque corps suivant les conditions expérimentales.

Ces déplacements ne peuvent être imputables à la photolyse, non plus qu'à une réémission de lumière : 1) la photolyse, lorsqu'elle a lieu, présente un caractère définitif : l'irradiation, toujours intense et prolongée, ayant cessé, on obtient un nouveau spectre qui rend compte de l'altération de la molécule. Au contraire, l'irradiation effectuée pendant l'obtention du spectre, intense mais brève (quelques secondes) modifie le spectre passagèrement : la substance qui vient d'être ainsi traitée redonne dans les conditions habituelles un spectre normal. 2) la réémission de la lumière de fluorescence, voire de la lumière de résonance, ne peut troubler le spectre d'absorption, car au point de vue énergétique la lumière ainsi réémise dans toutes les directions de l'espace ne correspond, lorsqu'elle pénètre dans la fente du spectrographe, qu'à un apport tout à fait négligeable.

De l'influence du pH, de la nature du solvant, de la température et de la viscosité en relation avec les modifications spectrales observées, il se dégage pour la quinine une conclusion susceptible d'être généralisée : l'ampleur et le sens du phénomène, son existence dans certaines parties du spectre

plutôt que dans d'autres, sont sous la dépendance de la forme que la molécule prend dans les diverses circonstances qui lui sont offertes.

Les variations observées sur le spectre du sulfate neutre de quinine au cours des changements de pH de sa solution, montrent que celles-ci sont en relation avec les différents états d'ionisation de la molécule qui, par ailleurs, ont été mis en évidence soit par la forme du spectre d'absorption lui-même, soit par le moyen de la courbe de saturation, soit à partir de la courbe du pouvoir rotatoire en fonction du pH.

L'étude de l'hydrastinine et de la cotarnine donne une confirmation à ces résultats. Pour chacune de ces deux substances les modifications du spectre d'absorption suivent les différents aspects pris par chacune de leurs molécules au cours des variations de pH. Cette étude montre, en outre, l'influence que peut avoir un changement, même peu important, à l'intérieur de la molécule, sur l'importance du phénomène. Ces deux alcaloides ne diffèrent en effet que par un radical OCH_3 qui existe en plus dans la cotarnine et de même que les propriétés physiques ont été considérablement modifiées lorsqu'on passe de l'un à l'autre, de même l'excitation de la fluorescence pendant l'obtention du spectre d'absorption occasionne des effets différents.

Dans le cas particulier du sulfate neutre de quinine, la solution cesse d'être fluorescente au delà de pH 9 et cependant le phénomène existe encore. Or au point de vue optique (absorption ultra-violette, absorption ultra-violette pendant l'excitation, pouvoir rotatoire) ou au point de vue électrométrique (courbe de saturation) rien de singulier n'est mis en évidence pour cette valeur de pH. Le phénomène que nous étudions relève donc de l'absorption et non pas de l'excitation de la fluorescence. D'autre part, étant donné que des variations du spectre d'absorption pendant l'excitation ne sont apparues qu'avec des substances fluorescentes, le fait que ce phénomène persiste dans la zône de non-fluorescence du sulfate neutre de quinine permet d'envisager la formation d'ions ou

de groupements inhibiteurs sur lesquels viendrait se transférer l'activation.

L'ionisation, la solvatation d'une molécule varient beaucoup avec la nature du solvant dans lequel elle est dissoute; corrélativement les modifications du spectre d'absorption varient suivant le degré d'ionisation ou de solvatation; celles-ci suivent nettement dans le cas de la quinine les valeurs du pouvoir inducteur spécifique des différents solvants. Dans les liquides normaux, non associés, à faible pouvoir inducteur spécifique comme l'éther sulfurique, le chloroforme, l'hexane et le cyclohexane où la molécule reste identique à elle-même et n'est pas solvatée, les effets observés sont très comparables; de même pour les liquides associés, à pouvoir inducteur spécifique élevé comme l'alcool méthylique, l'acétonitrile et la glycérine les effets sont également comparables quoique différents des précédents. L'acide acétique s'écarte de tous les autres liquides en raison de ses vertus ionisantes, de son pouvoir associant et aussi de la possibilité qu'il a de saturer les fonctions basiques de la quinine.

Une modification apportée au spectre d'une solution aqueuse donnée de quinine pour une température de 13°, garde la même valeur à la température de 65°, ainsi que dans l'intervalle compris entre ces deux températures. Nous pensons qu'une modification de température dans cet intervalle affecte dans la même proportion l'activation et la desactivation; elle n'est pas suffisamment importante pour agir indirectement, dans le cas d'une solution aqueuse, par l'intermédiaire des changements introduits dans la valeur de certains facteurs : viscosité, pouvoir inducteur spécifique, etc...

Dans une solution glycérinée la température a une action prépondérante sur la valeur de la viscosité. Les variations de $\frac{\Delta K}{K}$ observées au cours des variations de viscosité obtenues soit par changement de la température, soit par l'utilisation de mélanges en proportion variable d'eau et de glycérine, n'obéissent pas à une loi simple. La présence d'un maximum dans chacune des courbes donnant la variation de $\frac{\Delta K}{K}$ en fonction

de la température pour la première et en fonction de la concentration en eau du mélange glycériné dans le deuxième, (ce maximum pour les deux courbes correspond à une même valeur de la viscosité des deux solutions envisagées) nous fait admettre la conjuguaison de deux phénomènes : 1) effet dû à la viscosité; 2) existence d'une certaine quantité de molécules à l'état métastable en rapport avec l'existence possible d'une lumière de phosphorescence; cette quantité serait d'autant plus importante que la viscosité est plus grande.

Enfin l'étude de l'action des inhibiteurs, de même que celle de l'excitation monochromatique n'ont pu être abordées. Les quelques résultats obtenus ne permettent pas de tirer des conclusions certaines. Il semble cependant que le mécanisme de l'inhibition s'effectue suivant des processus différents suivant qu'elle est externe ou interne et on peut s'attendre à ce que les modifications du spectre d'absorption pendant l'excitation de la fluorescence ne soient pas dues à toutes les radiations utilisées à partir du rayonnement irradiant.

Il est difficile d'émettre une opinion sur le mécanisme qui permet à une radiation excitatrice de changer la valeur du coefficient d'absorption sur une partie déterminée du spectre et dans un sens déterminé. On peut tout au plus penser que temporairement une molécule fluorescente activée peut passer avant de se desactiver par une forme différente de la normale.

Dans quel sens faut-il prévoir le développement des mesures avant qu'une théorie physico-chimique du phénomène puisse être proposée ?

Les recherches systématiques "par familles chimiques" de Mme RAMART-LUCAS ont démontré une parenté indiscutable, un "air de famille" dans les courbes d'absorption ultra-violette, avec des modifications que Mme RAMART-LUCAS attribue à des changements dans les couplages des oscillations des électrons conjugués.

D'autre part pour une molécule donnée, il est possible avec VLES et ses élèves de se faire une cidée dans le spectre d'absorption de la part qui peut revenir à tel ou tel noyau

et même mieux de préciser qu'une bande ou un épaulement peut être sensible à une ionisation et à une cyclisation. On voit se préciser ici, en les localisant, les notions générales d' oscillations couplées.

Dans ces conditions, pour des familles chimiques données et pour des substances dont le spectre d'absorption ultra-violet a été bien identifié et mis en rapport avec les aptitudes réactionnelles de la molécule, l'excitation de la fluorescence entrainerait des variations de l'absorption liée à un groupement chimique défini dans la molécule. Ainsi il sera possible non seulement d'identifier une vibration propre à une partie déterminée de la molécule, mais aussi de saisir le mécanisme moléculaire de l'absorption d'une radiation et de sa restitution en énergie lumineuse, c'est à dire de localiser chimiquement le processus de fluorescence.

Quand on pense à l'importance des radiations dans les réactions chimiques et particulièrement dans la chimie biologique, la chimie des vitamines et celle des synthèses cellulaires, on peut espérer une fructueuse moisson de faits nouveaux dans l'étude simultanée de l'absorption ultra-violette, de la fluorescence et de la physico-chimie des molécules organiques.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

(1) - ACHARD C., BOUTARIC A. et BOUCHARD J.- C.R. 1935-201 p.629

(2) - ALLARD G.- C.R. 1932-194 p.1490

(3) - AMAGAT(Mlle) et RAMART-LUCAS (Mme).- Bull. Soc. Chim. 1932-51 p.965

(4) - ANDANT A. - Thèse Pharmacie Paris 1929

(5) - BIALOBJESKI C.- Ann. Phys. 1926-5 p.215

(6) - BOARDMANN.- Phys. Rev. 1922-20 p.552

(7) - BONNEMAY M. et VERDIER E.T.- J. Ch. Phys. 1944-41 p.43

(8) - BOUCHARD J.- J.Ch. Phys. 1936-33 p.64

(9) - BOUCHARD J.- J.Ch. Phys. 1936-33 p.127

(10) - BOUCHARD J.- J.Ch. Phys. 1936-33 p.232

(11) - BOUCHARD J.- J.Ch. Phys. 1936-33 p.325

(12) - BOUDIN S. (Mlle).- J.Ch. Phys. 1930-27 p.285

(13) - BOUTARIC A. et ROY M.- C.R. 1939-209 p.162

(14) - BRAUN G. (Mlle).- J.Ch. Phys. 1936-33 p.559

(14 bis) - BRUHAT G. et PAUTHENIER M.- Ann. Phys. 1926-5 p.440

(15) - BRUYLANTS.- Bull. Acad. Roy. Belge 1927-13 p.767

(16) - CASTILLE.- Bull. Acad. Roy. Belge 1930-16 p.817

(17) - CASTILLE et RUPOL.- Bull. Soc. Chim. Biol. 1928-10 p.623

(18) - CHALLONGE et LAMBREY.- C.R. 1927-185 p.1057

(19) - CHERUY P.- J.Ch. Phys. 1935-32 p.155

(20) - CLARK W.M.- The determination of hydrogen ions. Baltimore - Williams et Wilkins Company 1920

(21) - DESHA, SHERRIL et HARRISSON.- J. Amer. Soc. 1926-48 p.1493

(22) - DHERE.- La fluorescence en biochimie - Paris, Presses Universitaires de France - 1937

(23) - DONZELOT.- Thèse Pharmacie Nancy - 1936

(23) - DONZELOT.- Soc. Sciences Nancy t.3 p.10

(24) - DOSS K.S.G.- Proc. indian assoc. 1937-6 p.24

(25) - DOSS M.D.- Thèse Pharmacie Strasbourg 1938

(26) - EISENBRAND.- Z. für Physik-Chemie 1929 A 144 p.441

(27) - EL FALLAH G.- Thèse Pharmacie Strasbourg 1942

(28) - FISCHER H.- Thèse - Zürich 1925

(29) - FRANK J. et KUHN H.- Z. für Physik 1927-44 p.607

(30) - GAVIOLA et PRINGSHEIM P.- Z. für Physik 1927-43 p.384

(31) - GEX (Mlle).- Arch. Phys. biol. 1931 p.108

(32) - GEX (Mlle).- Arch. Phys. biol. 1933-10 p.250
(33) - GEX (Mlle).- Arch. Phys. biol. 1936-13 p.194
(34) - GIBSON et BAYLISS.- Phys. Rev. 1929-44 p.188
(35) - GOMEZ.- Ann. Soc. espan. 1931-29 p.280
(36) - GRAMMATICAKIS.- Thèses Sciences - Paris 1938
(37) - HABERTS (Mlle), HEERTJES, VAN DER HULST et WATERMAN.- Bull. Soc. Chim. 1936 p.1916
(38) - HENEIN K.- Thèse Pharmacie Strasbourg
(39) - HENRI V.- Etudes de photochimie - Paris, Gauthiers-Villars 1919 p.174
(40) - HENRI V.- Tables annuelles des constantes et données numériques - Paris, Gauthiers-Villars 1930
(41) - HENRI V.- J. Phys. 1922-3 p.203
(42) - HENRI V. et ERRERA.- C.R. 1925-180 p.2049
(43) - HENRI V. et ERRERA.- C.R. 1925-181 p.548
(44) - HENRI V. et WURMSER R.- J. Phys. 1927-8 p.289
(45) - HOCH et RAMART-LUCAS (Mme).- Ann. Chim. 1932.17 p.207
(46) - HOCH et RAMART-LUCAS (Mme).- C.R. 1929-189 p.696
(47) - JENNESS J.R.- Phys. Rev. 1929-34 p.1275
(48) - JOBIN et YVON.- Bull. Soc. Phys. t.323 p.828
(49) - KAYSER.- Handbuch der Spektroskopie - 1908-3 p.85
(50) - KELBER P.- Thèse Pharmacie Strasbourg 1934
(51) - KNOBLAUCH.- Ann. der Physik - 1895-54 p.193
(53) - KUNDT.- Wied. ann. 1878 p.34
(54) - LAINE (Mlle).- Thèse Pharmacie Nancy 1937
(55) - LALANNE et RAMART-LUCAS (Mme).- Ann. Chim. 1931-16 p.303
(56) - LAPP C.- C.R. 1933-196 p.970
(57) - LENARD.- Ann. der Physik 1910-31 p.661
(58) - LEPINE.- Ann. Phys. 1915-4 p.207
(59) - LEWSCHIN W.L.- Act. Phys. Chem. U.R.S.S. 1935-2 p.221
(60) - LEWSCHIN W.L.- J. Ch. Phys. Russe 1931 p.641
(61) - LEWSCHIN W.L.- Act. Phys. Chem. U.R.S.S. 1935-1 p.685
(62) - LEWSCHIN W.L.- Z. für Physik 1924-26 p.274
(63) - LIGUIER (Mlle).- Ann. Phys. 1927-8 p.152
(64) - LOOMIS F.W.- Phys. Rev. 1927-29 p.112
(65) - LUCAS R.- C.R. 1930.190 p.1497
(66) - LUNDBLAD.- Ann. der Physik 1918-57 p.581
(67) - MARTINET.- Couleur et constitution chimique - Paris 1924 p.98

(68) - MATHEN K.G. et BHATNAGAR S.J.- Proc.indian assoc. 1928 p.37

(69) - MEISSNER K.- Ann. der Physik 1925-76 p.124

(70) - METCALFE E.P. et VENKATESACHAR B.- Proc. Roy. Soc. 1921-100 p. 149

- id -1924-105 p.530

(71) - MEYER R.- Z. Physik Chemie 1897-24 p.468

(72) - MEYER R.- Chem. Ber. 1898-31 p.510

- id. - 1903-36 p.2967

(73) - MOUGENOT.- Thèse Pharmacie Nancy 1936

(74) - NEWMANN F.H.- Phil. Mag. 1923-46 p.22

(75) - PERRIN F.- Thèses Sciences - Paris 1929

(76) - PERRIN J.- C.R. 1923-177 p.469

(77) - PERRIN J.- C.R. 1927-184 p.1097

(78) - PRINGSHEIM P.- Z. für Physik 1922-10 p.176

(79) - PRINGSHEIM P.- Trans. Farad.Soc. 1939-35 p.28

(80) - RAGAEY.- Thèse Pharmacie Strasbourg 1942

(81) - RAKOWER E.- Act. Phys. polonica 1934-3 p.415

(82) - RAMART-LUCAS (Mme).- Traité de Chimie Organique publié sous la direction de Grignard tome II - Paris, Masson 1932

(83) - ROBERTSON J.K.- Nature 1922-109 p.43

(84) - SCHMIDT.- Ann. der Physik 1921-64 p.713

(85) - SCHUHLER H. (Mlle).- Thèse Médecine Strasbourg 1942

(86) - SESHAN P.K.- Trans. Farad. Soc. 1936-32 p.689

(87) - SPEAS.- Phys. Rev. 1928-31 p.569

(88) - STOKES.- Phil. Trans. 1852-142 p.541

(89) - SVESHNIKOFF B.J.- J. Ch. Phys. Russe 1937-10 p.664

(90) - SVESHNIKOFF B.J.- Act. Phys.Chem. U.R.S.S. 1937-7 p.755

(91) - SZCZENIOWSKI.- Soc. Polon. Phys. 1927-8 p.53

(92) - VAILLANT.- J. Phys. 1927-8 p.310

(93) - VITTE S. (Mlle).- J. Ch. Phys. 1929-26 p.276

(94) - VLES F.- Arch. Phys. biol. 1942-57 p.73

(95) - VLES F.- Arch. Phys. biol. 1942-57 p.75

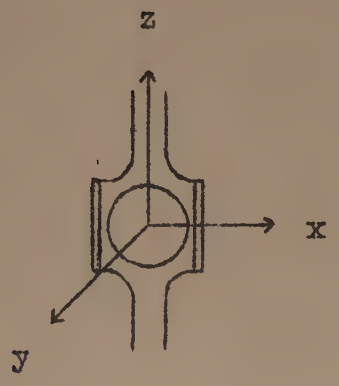
(96) - VLES F.- Introduction à la photochimie biologique Paris - Vigot 1942

(97) - VLES F.- Précis de Chimie-Physique à l'usage des étudiants en médecine - Paris Vigot 1929

(98) - VLES F.- Arch. phys. biol. 1943-16 p.163
(99) - VLES F. et GEX M. (Mlle).- Arch.Phys.biol. 1926-5 p.78
(100) - VLES F. et RUPPOL E.- Arch. Phys. biol. 1929-7 p.102
(101) - VLES F. et VELLINGER E.- Arch. Phys. biol. 1927-6 p.38
(102) - VLES F. et VELLINGER E.- Arch. Phys. biol. 1927-6 p.72
(103) - VOLMAR Y.- Bull. Soc. Chim. 1927-42 p.302
(104) - VOLMAR Y. et CLAVERA.- J. Pharm.et Chimie 1931-14 p.501
(105) - VOLMAR Y. et MATHIS J.- Bull. Soc. Chim. 1932-51 p.144
(106) - VOLMAR Y. et MATHIS J.- Bull. Soc. Chim. 1933-53 p.385
(107) - VOLMAR Y. et WIDDER.- C.R. VIIIe Congrès Chimie Industrielle 1928
(108) - WATERS W.A.- Nature 1931-128 p.905
(109) - WAWILOW S.J.- Z. für Physik 1926-22 p.266
(110) - WAWILOW S.J.- Z. für Physik 1927-42 p.311
(111) - WEISS J.- Trans. Farad. Soc. 1939-35 p.48
(112) - WICK et THROOP J.- Opt. Soc. amer. 1935-25 p.368
(113) - WOOD R.W.- Précis d'optique physique - Paris, Gauthier-Villars 1914

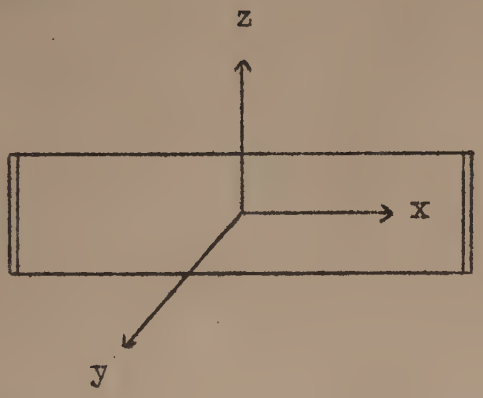
D I S P O S I T I F S

1er DISPOSITIF



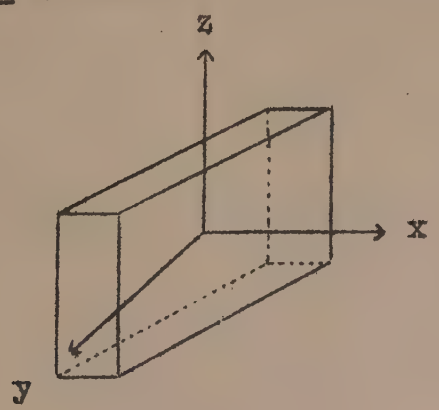
Déplacement laminaire
x absorption
y excitation
z déplacement laminaire

2e DISPOSITIF



pas de déplacement sensible
-x excitation
x absorption
-x déplacement de la solution

3e DISPOSITIF (Cuve à 45° sur l'axe des X)

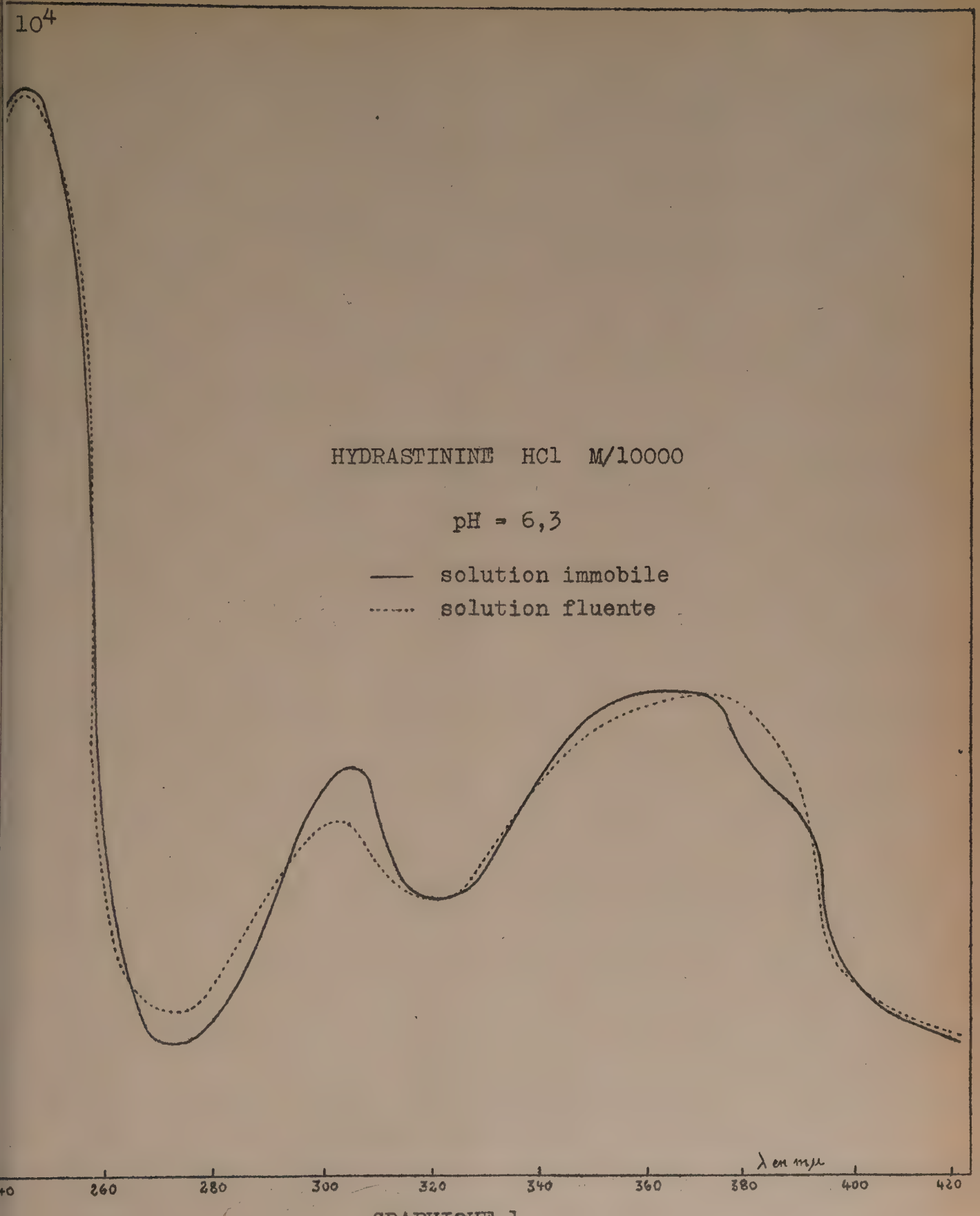


x absorption
y excitation
z régime turbulent

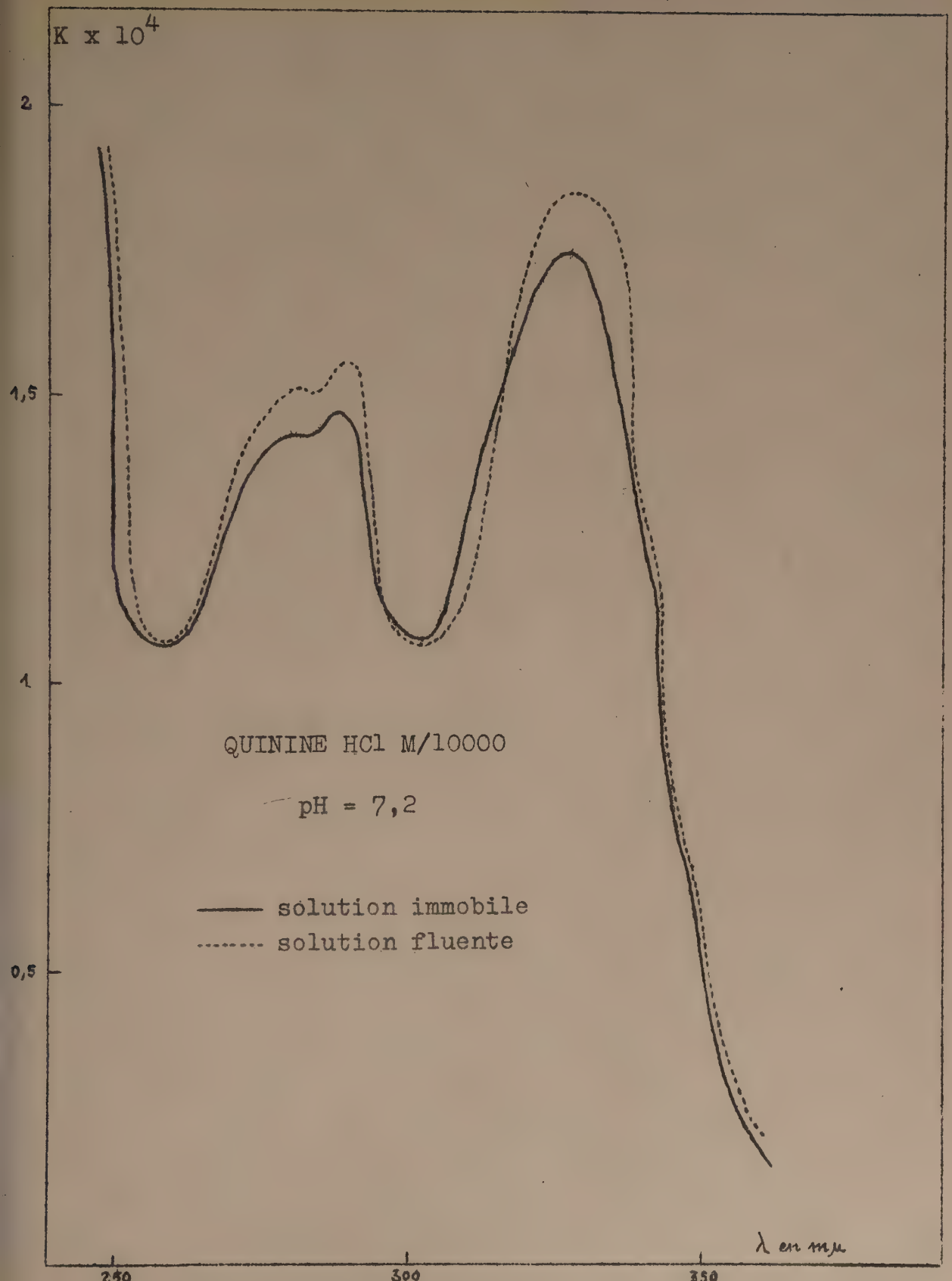
FIGURE I.

G R A P H I Q U E S

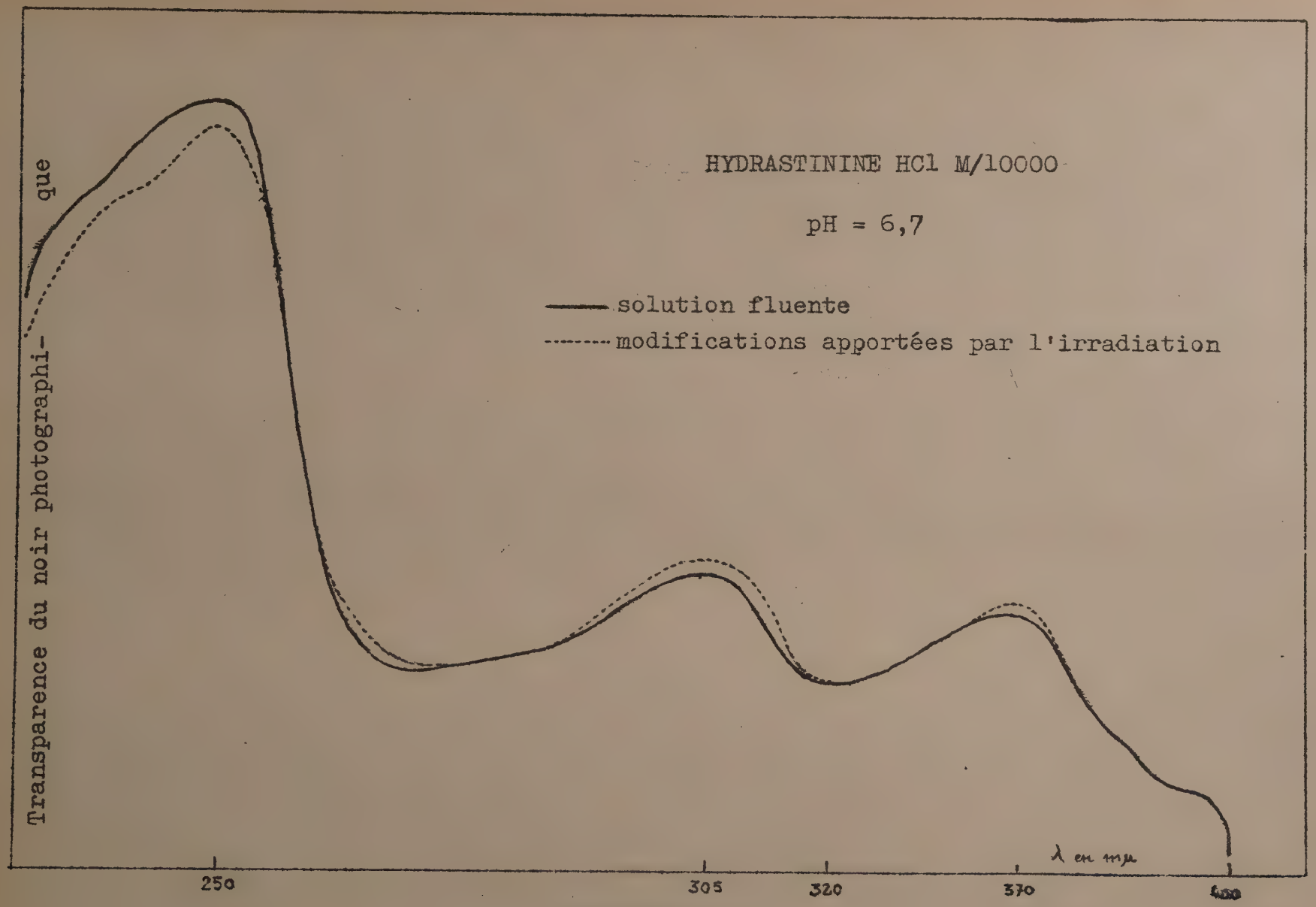
G R A P H I Q U E S


10^4
HYDRASTININE HCl M/10000
pH = 6,3
—— solution immobile
------ solution fluente
λ en mμ
240
260
280
300
320
340
360
380
400
420

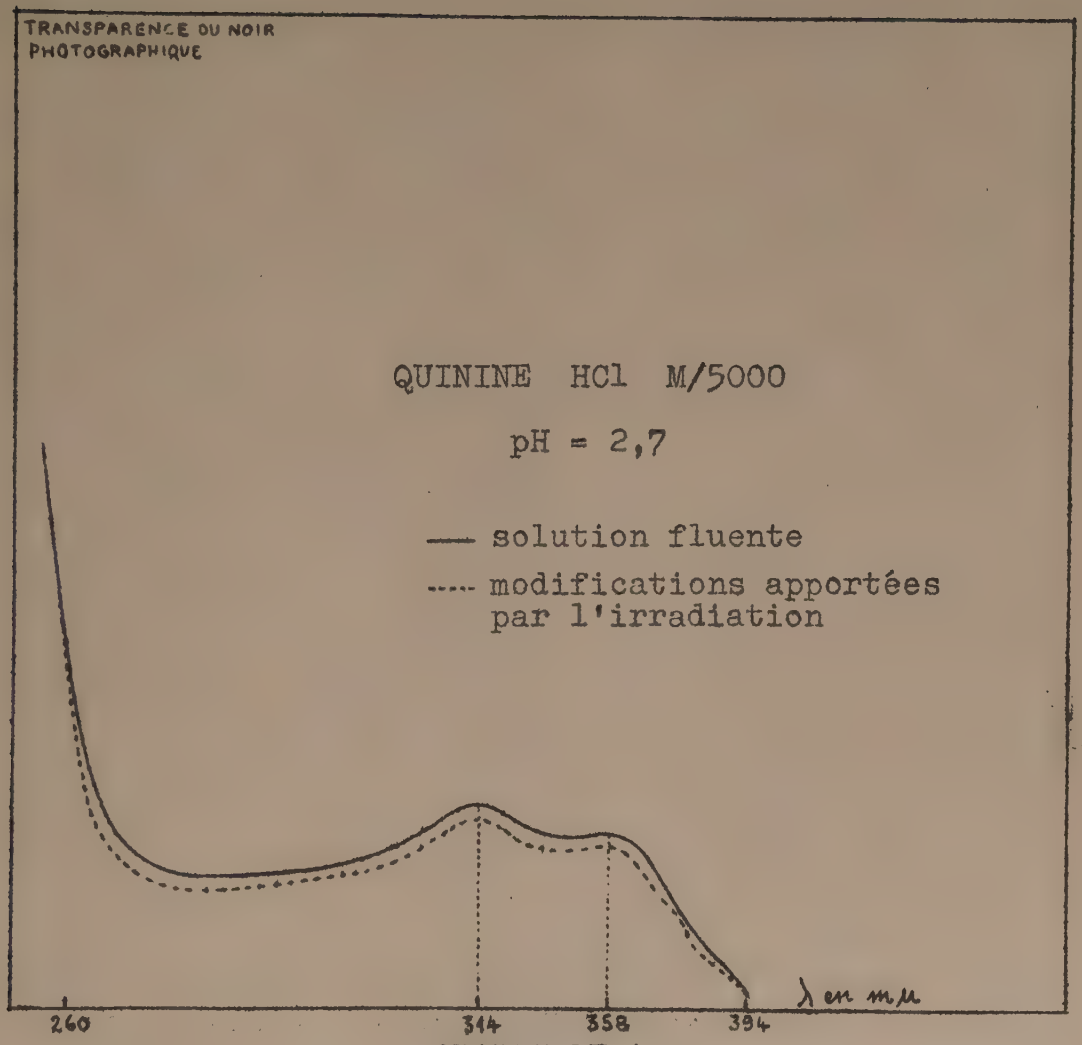
GRAPHIQUE 1.


K x 10^4
2
1,5
1
0,5
QUININE HCl M/10000
pH = 7,2
solution immobile
solution fluente
λ en mμ
250
300
350

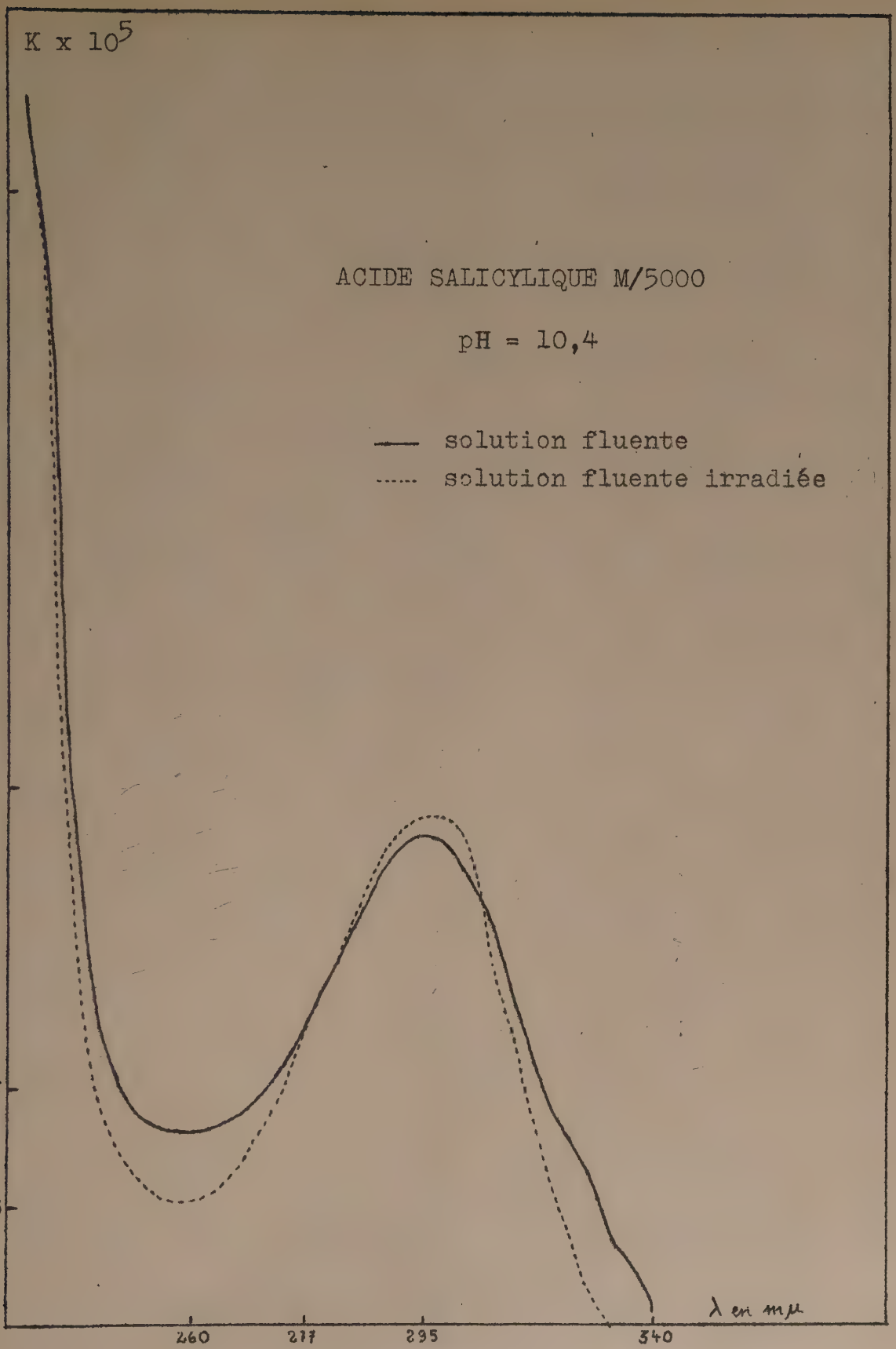
GRAPHIQUE 2.


HYDRASTININE HCl M/10000
pH = 6,7
solution fluente
modifications apportées par l'irradiation
Transparence du noir photographique
λ en mμ
250
305
320
370
400

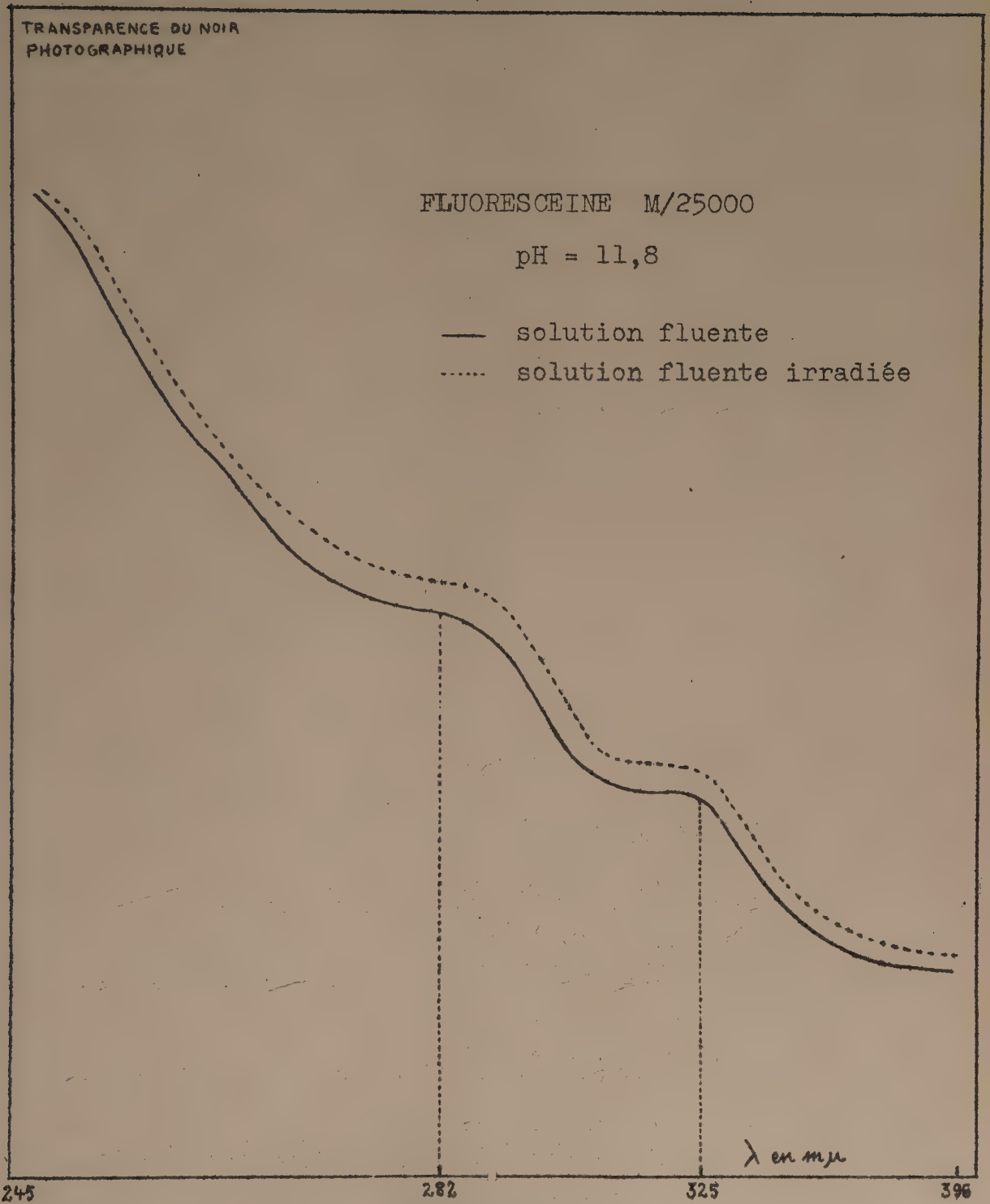
GRAPHIQUE 3.


TRANSPARENCE DU NOIR PHOTOGRAPHIQUE
QUININE HCl M/5000
pH = 2,7
— solution fluente
----- modifications apportées par l'irradiation
λ en mμ
260
314
358
394

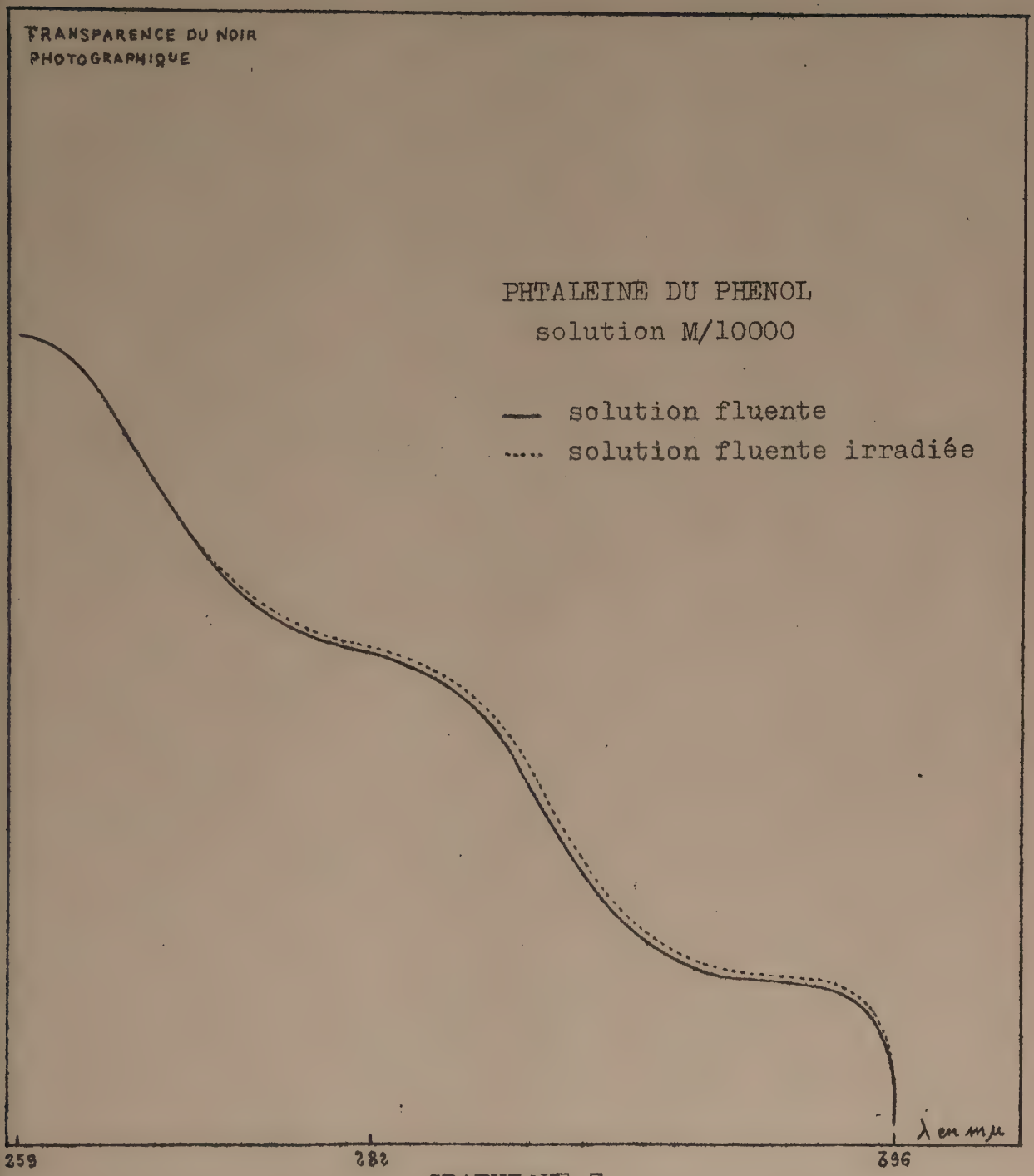
GRAPHIQUE 4.


K x 10⁵
2
1
0,5
0,3
ACIDE SALICYLIQUE M/5000
pH = 10,4
solution fluente
solution fluente irradiée
λ en mμ
260
277
295
340

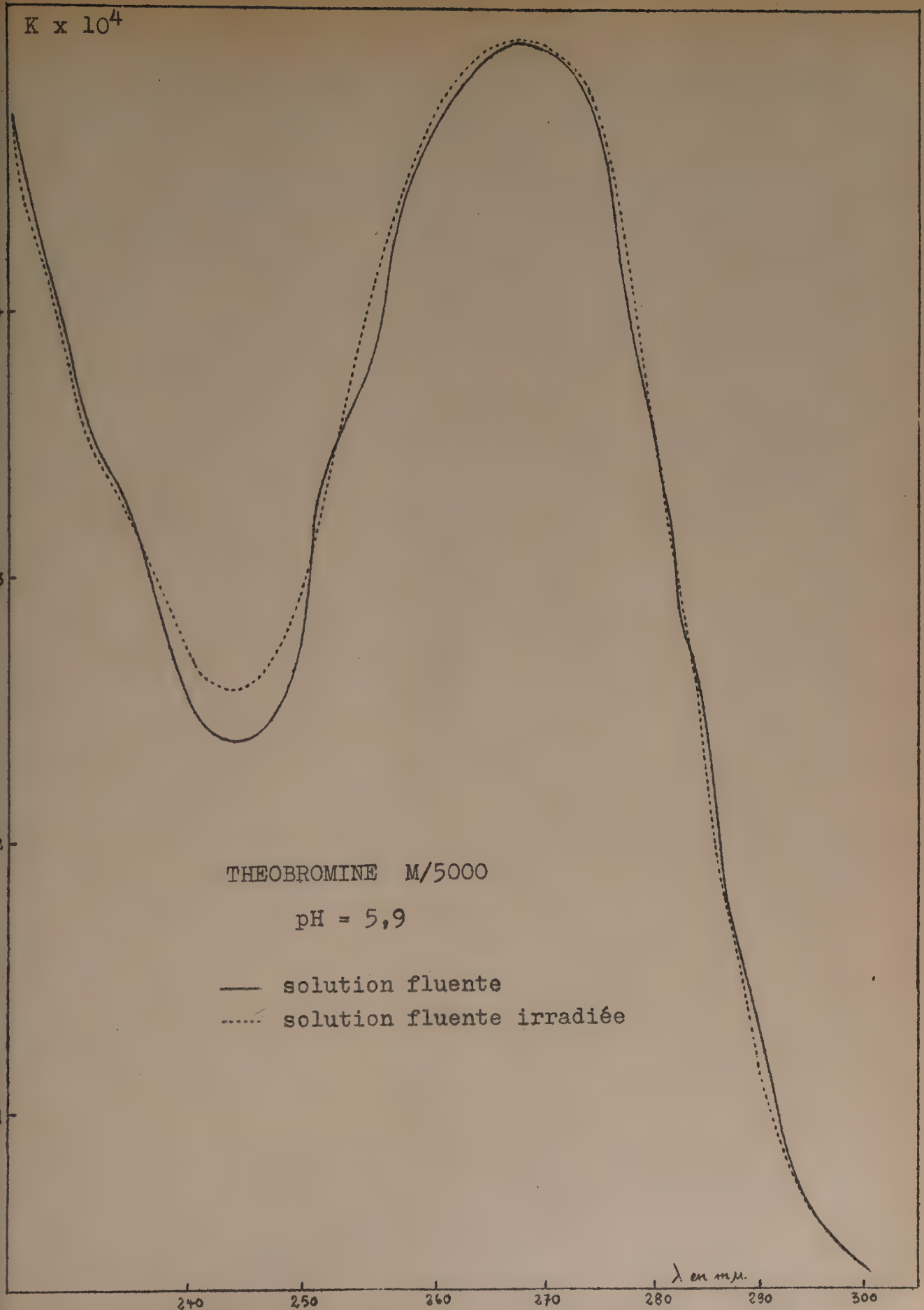
GRAPHIQUE 5.


TRANSPARENCE DU NOIR PHOTOGRAPHIQUE
FLUORESCEINE M/25000
pH = 11,8
solution fluente
solution fluente irradiée
λ en mμ
245
282
325
396

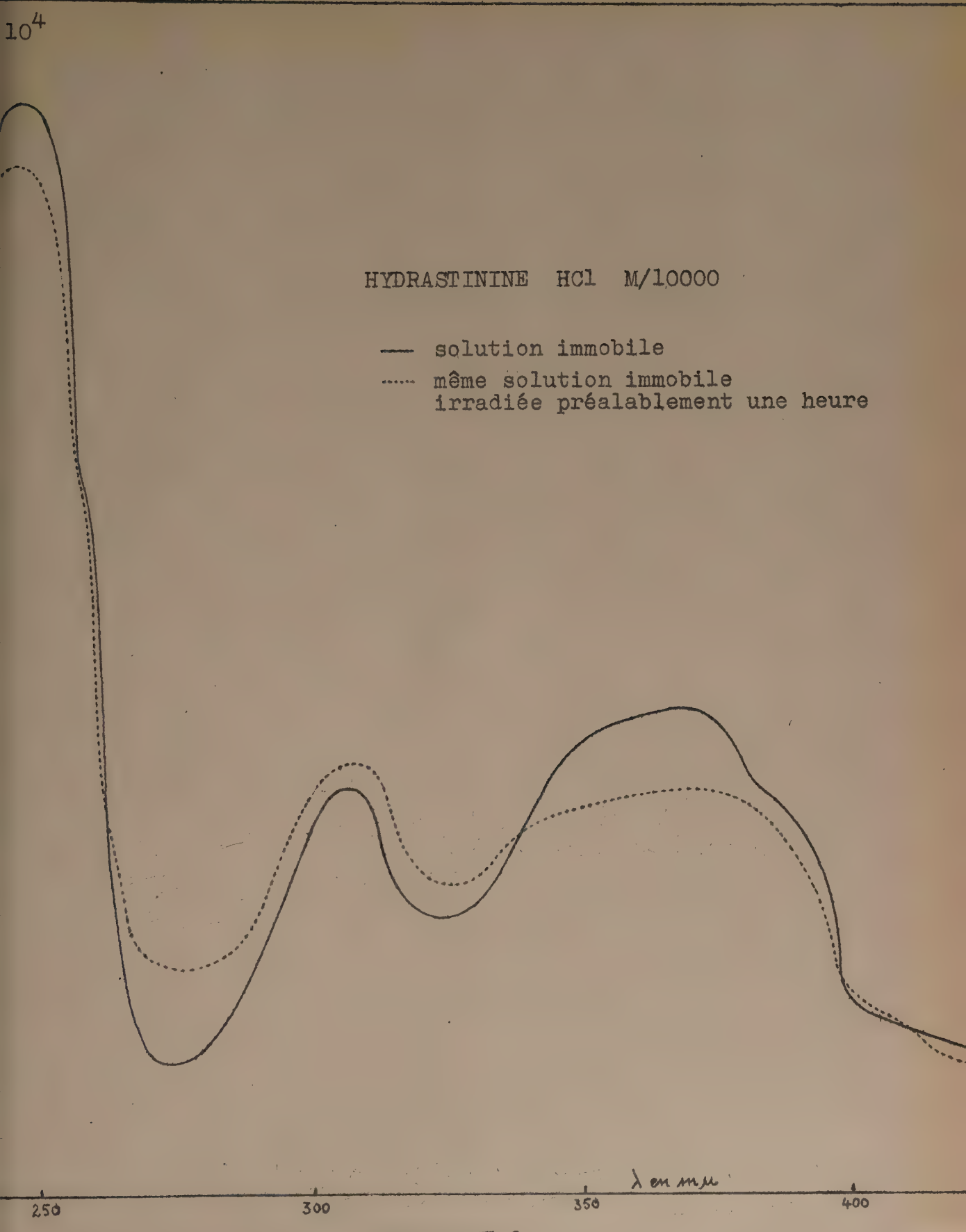
GRAPHIQUE 6.


TRANSPARENCE DU NOIR PHOTOGRAPHIQUE
PHTALEINE DU PHENOL
solution M/10000
— solution fluente
···· solution fluente irradiée
λ en mμ
259
282
396

GRAPHIQUE 7.

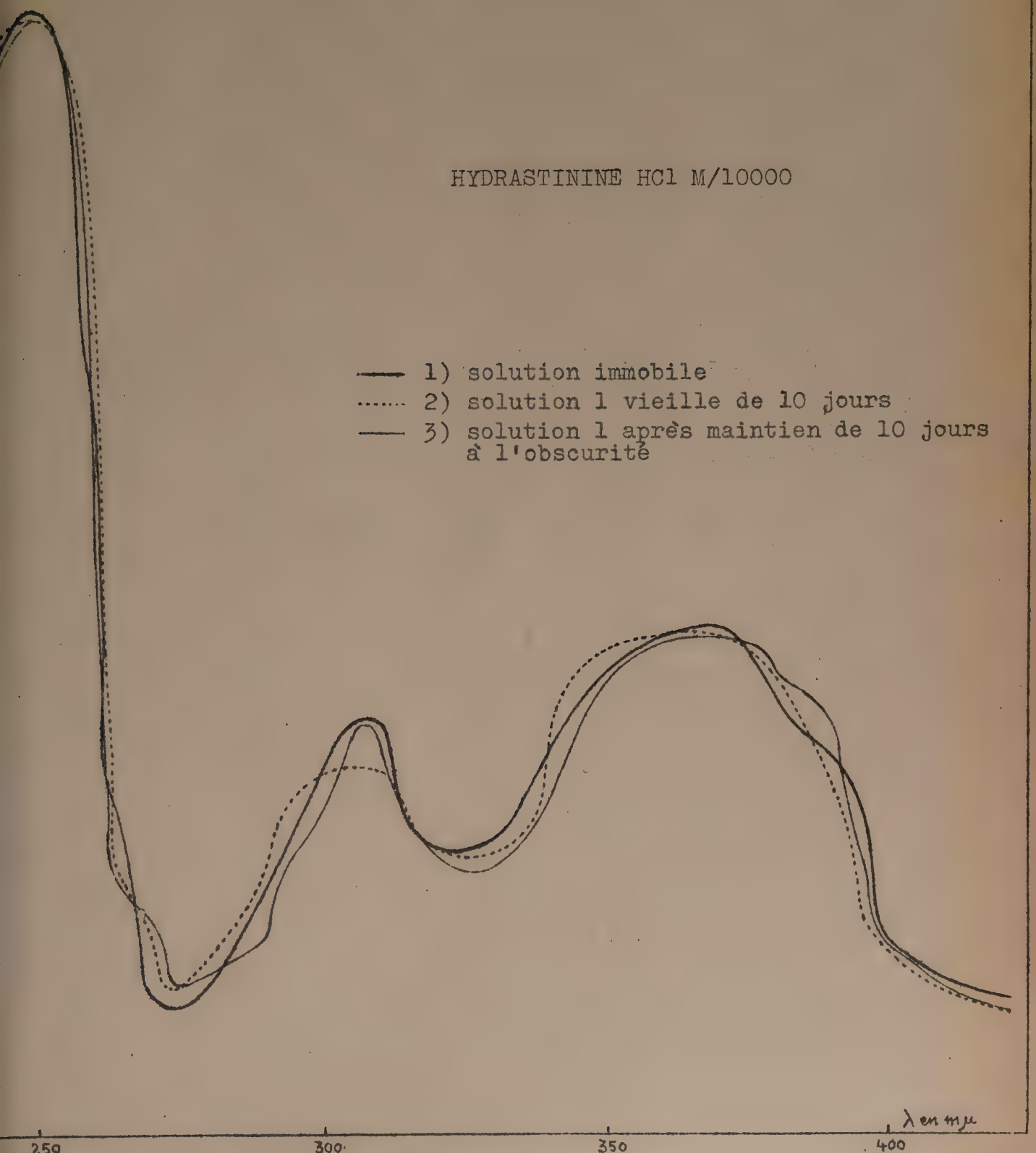

K x 10⁴
4
3
2
1
THEOBROMINE M/5000
pH = 5,9
solution fluente
solution fluente irradiée
λ en mμ.
240
250
260
270
280
290
300

GRAPHIQUE 8.

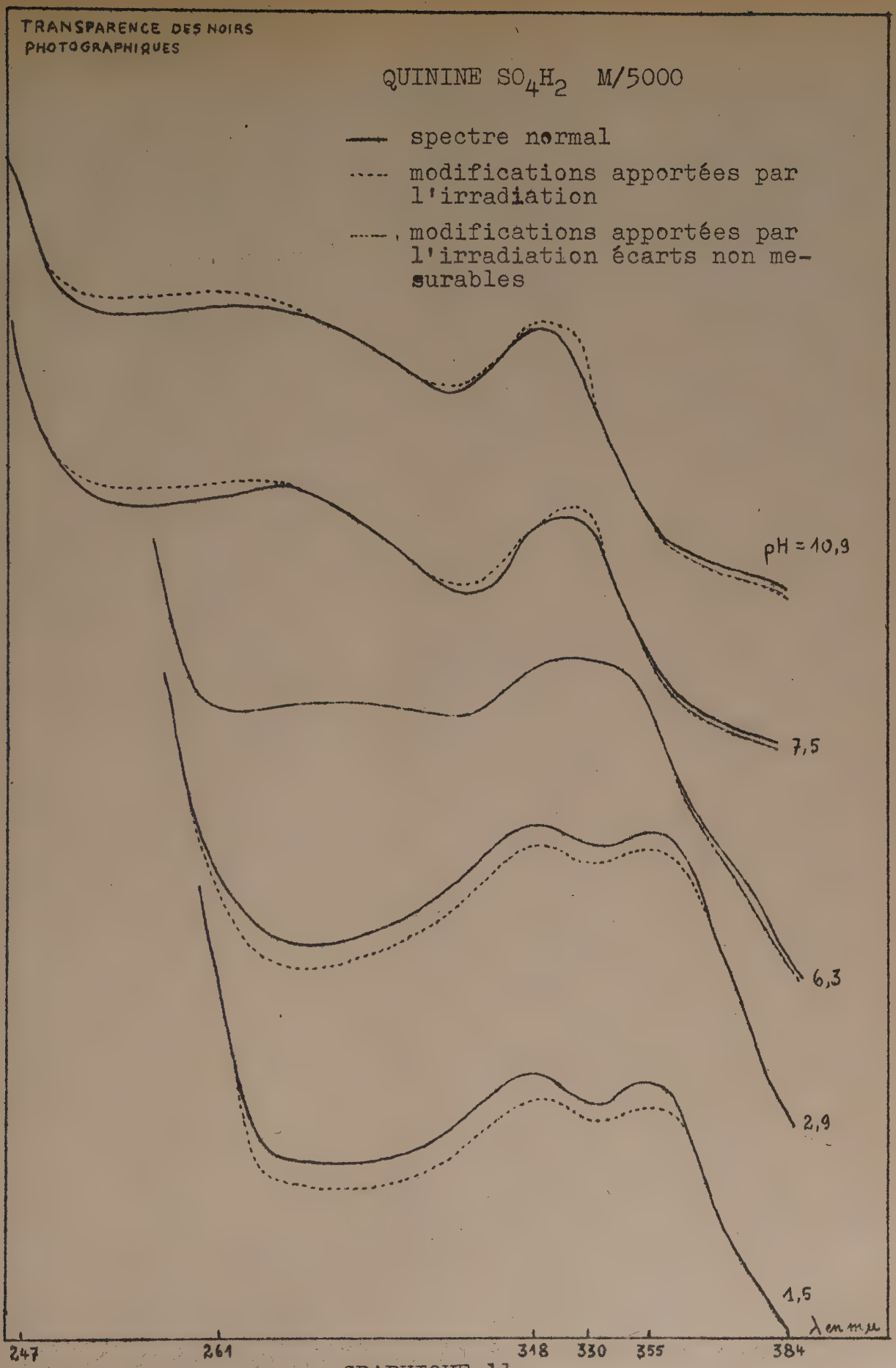

10^4
HYDRASTININE HCl M/10000
solution immobile
même solution immobile
irradiée préalablement une heure
λ en mμ
250
300
350
400

GRAPHIQUE 9.

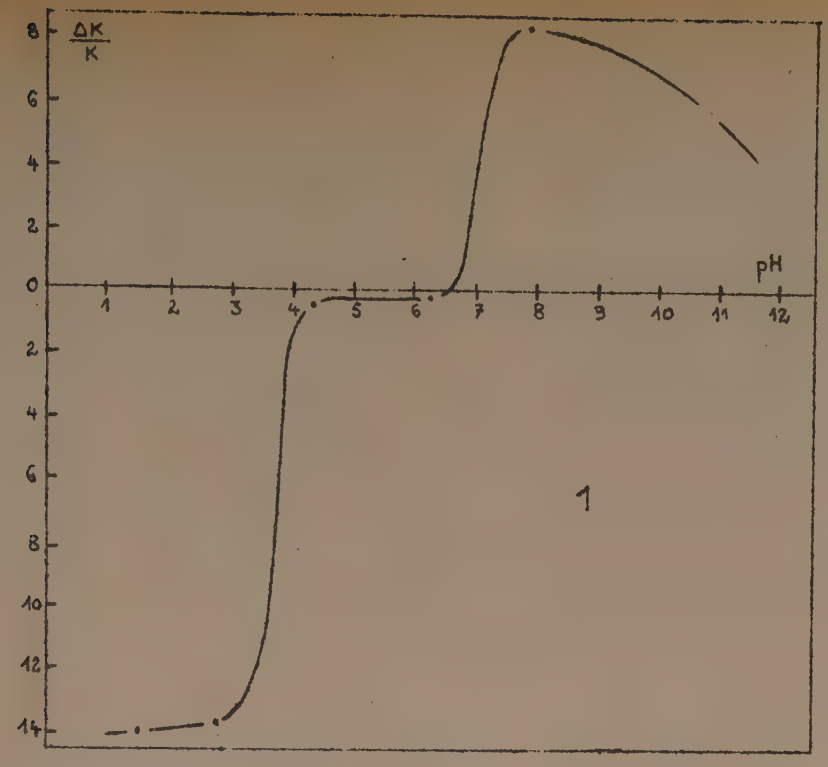
x 10^4

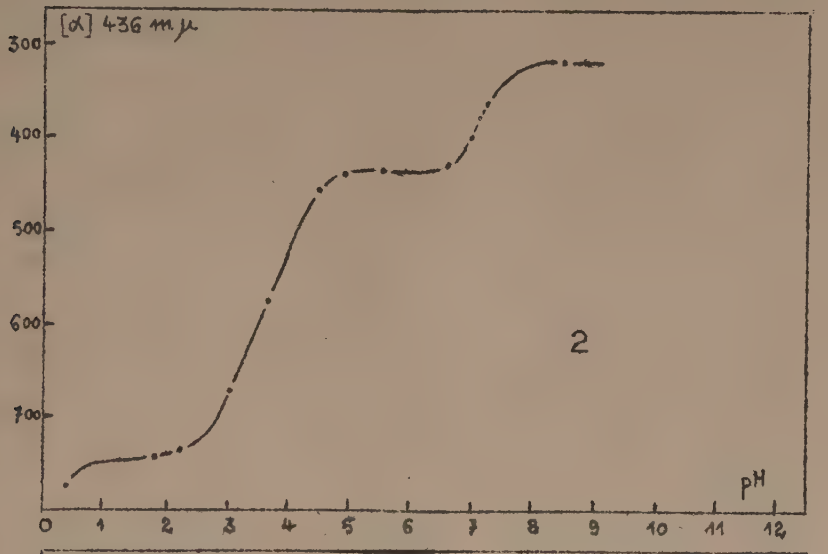


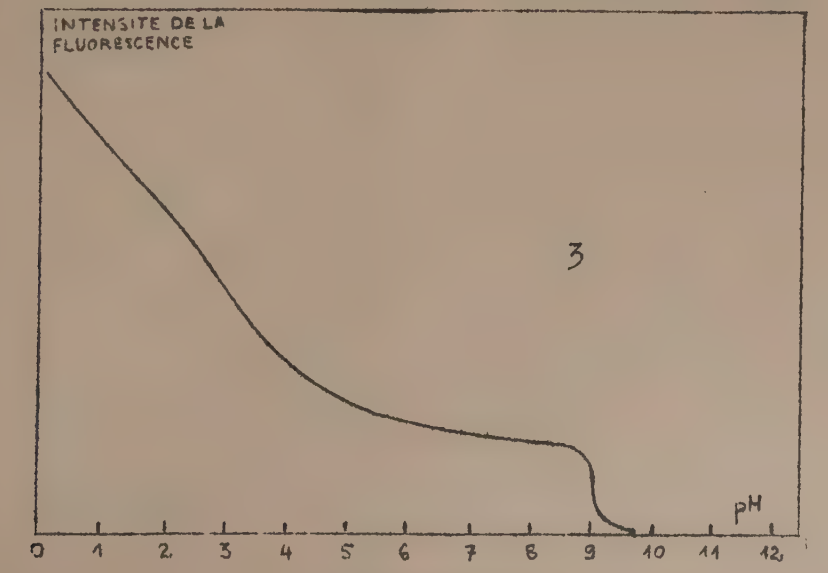
GRAPHIQUE 10.



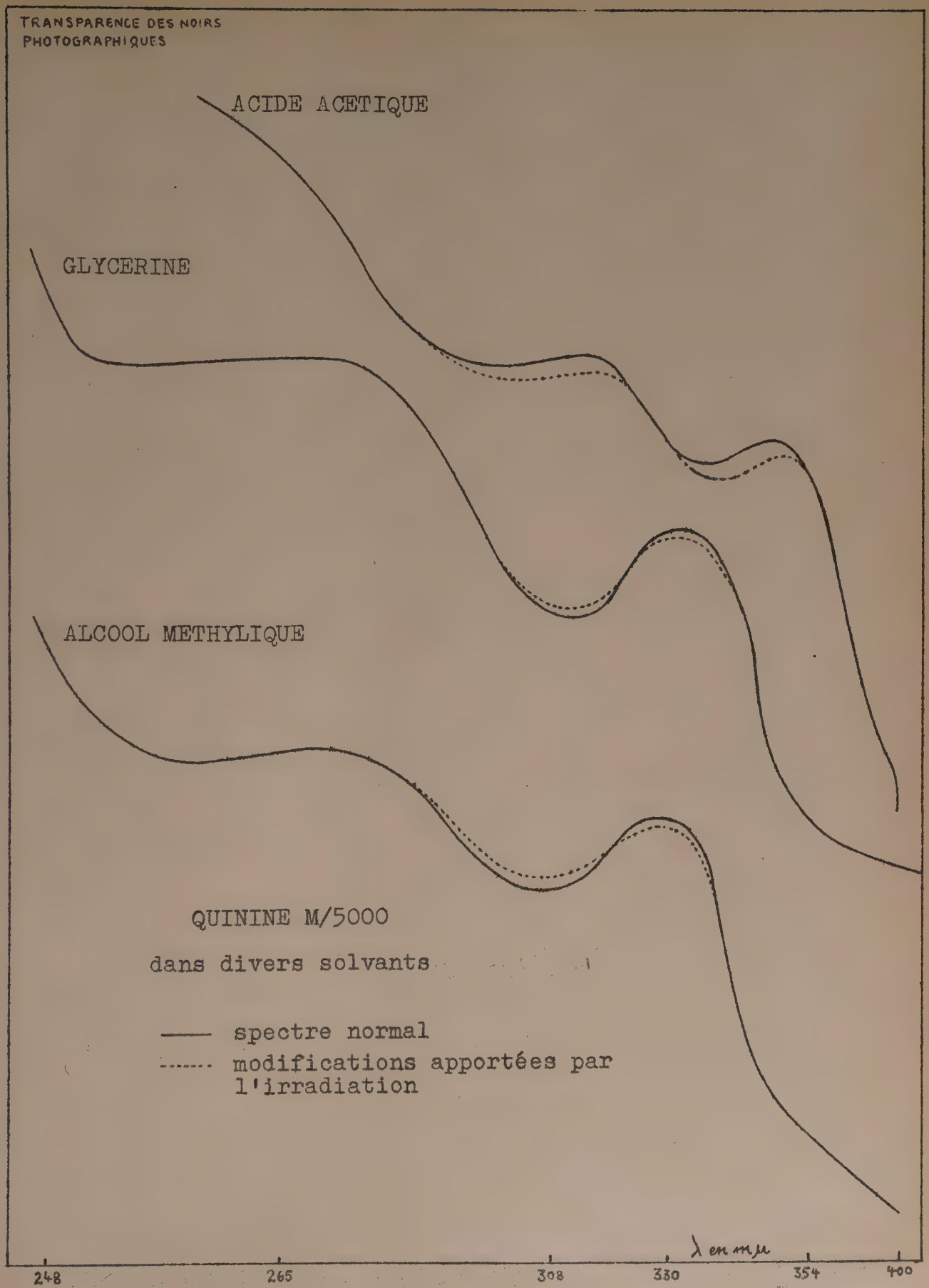
GRAPHIQUE 11.



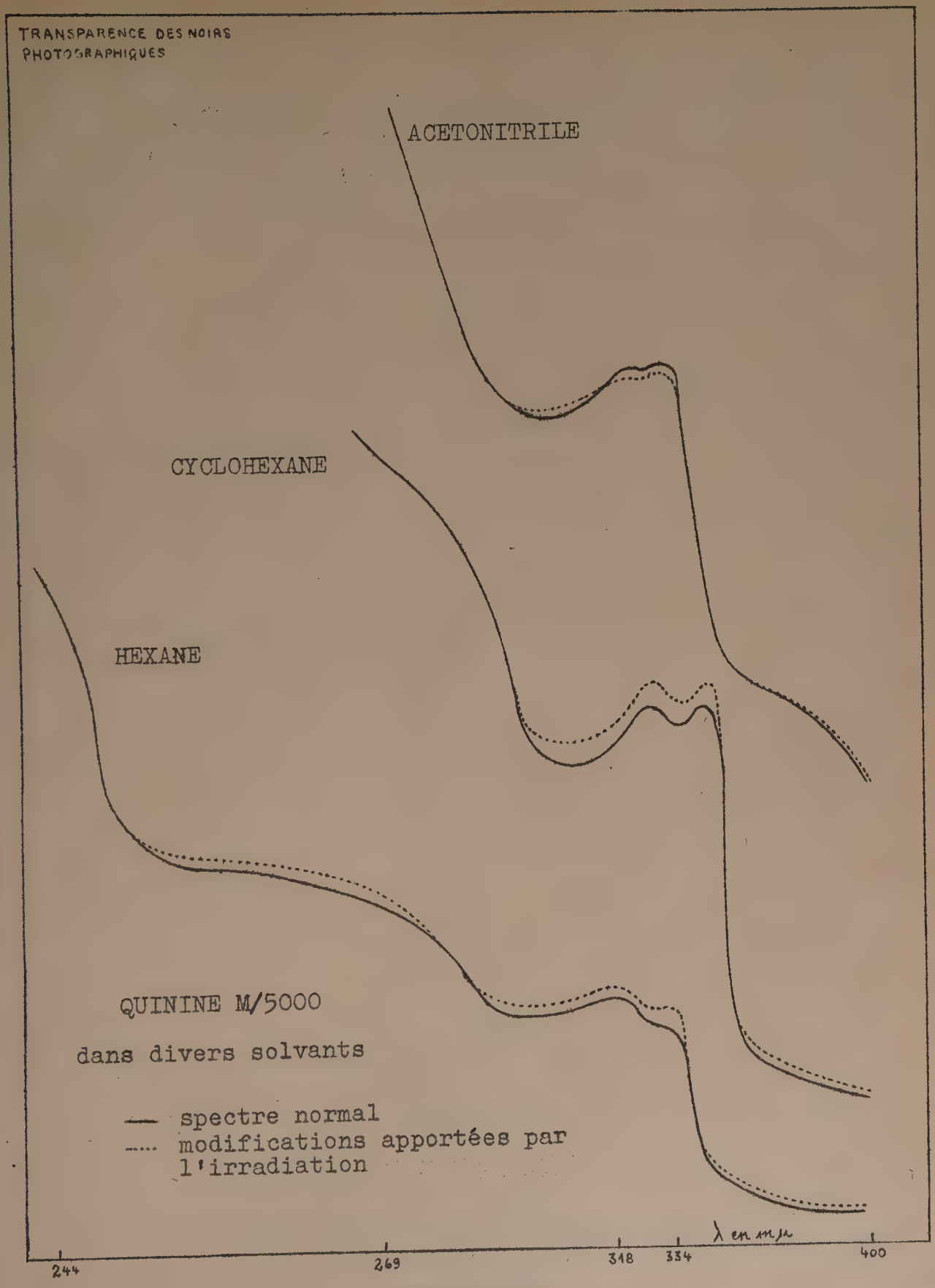




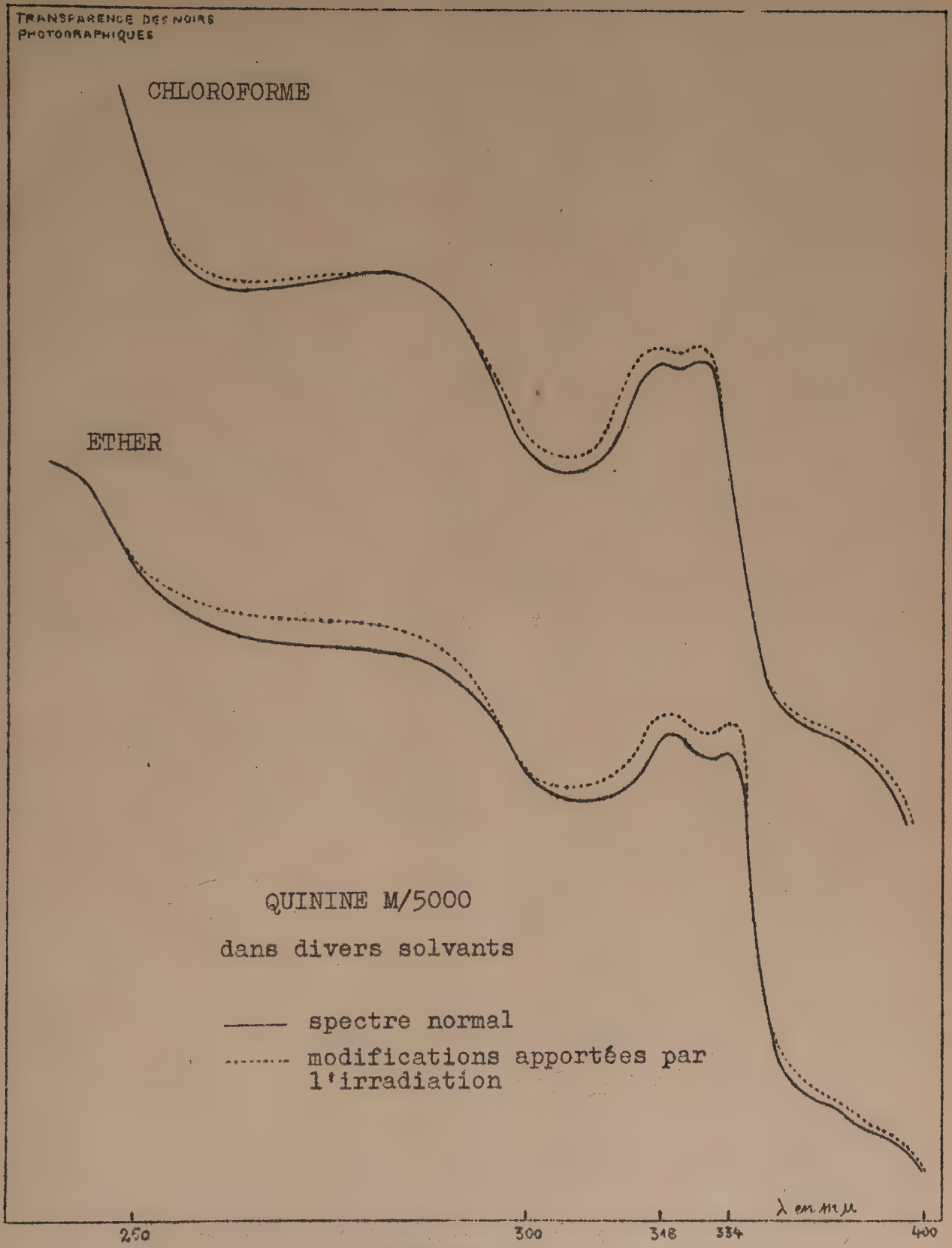
GRAPHIQUE 12.



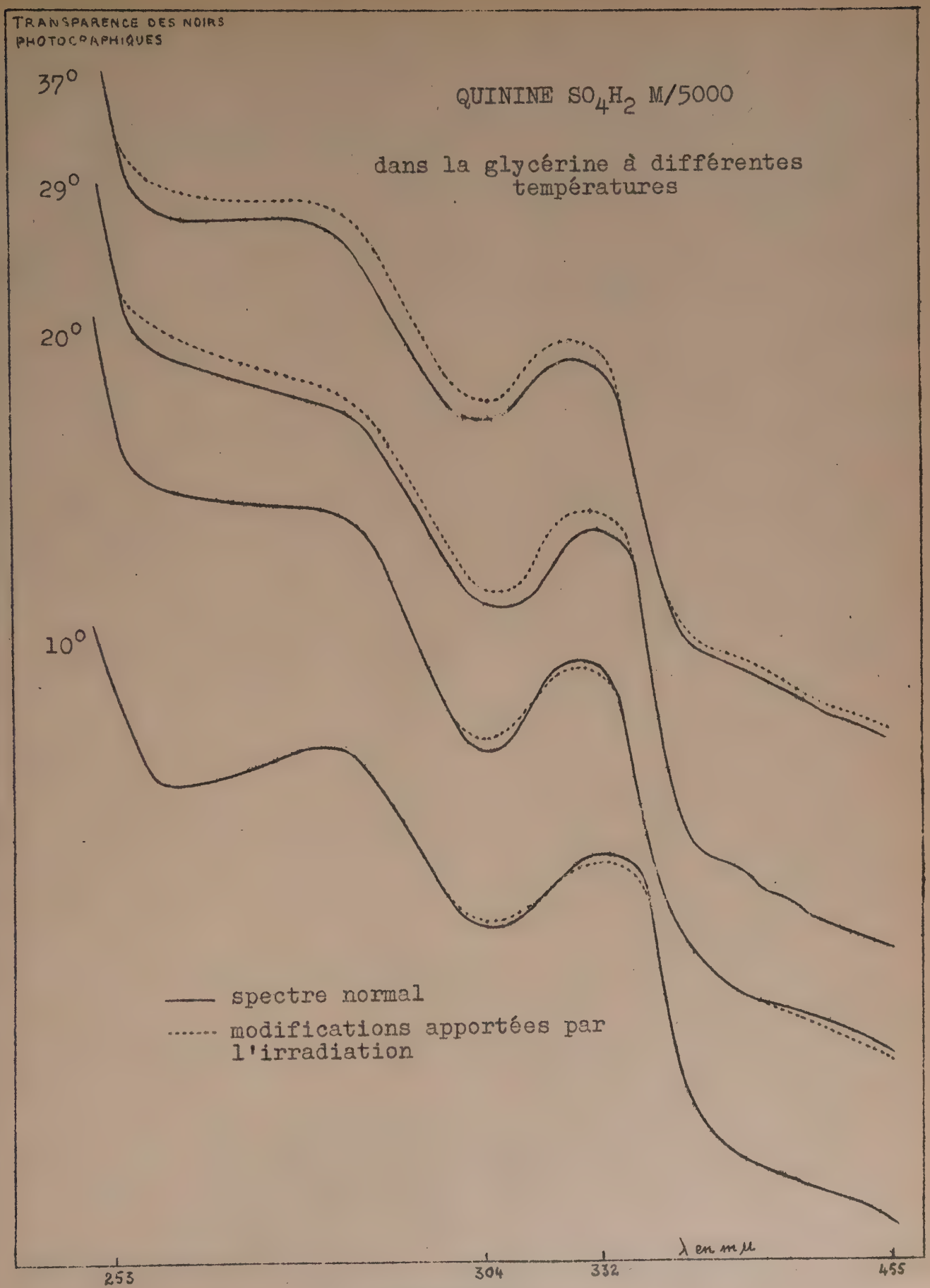
GRAPHIQUE 13.



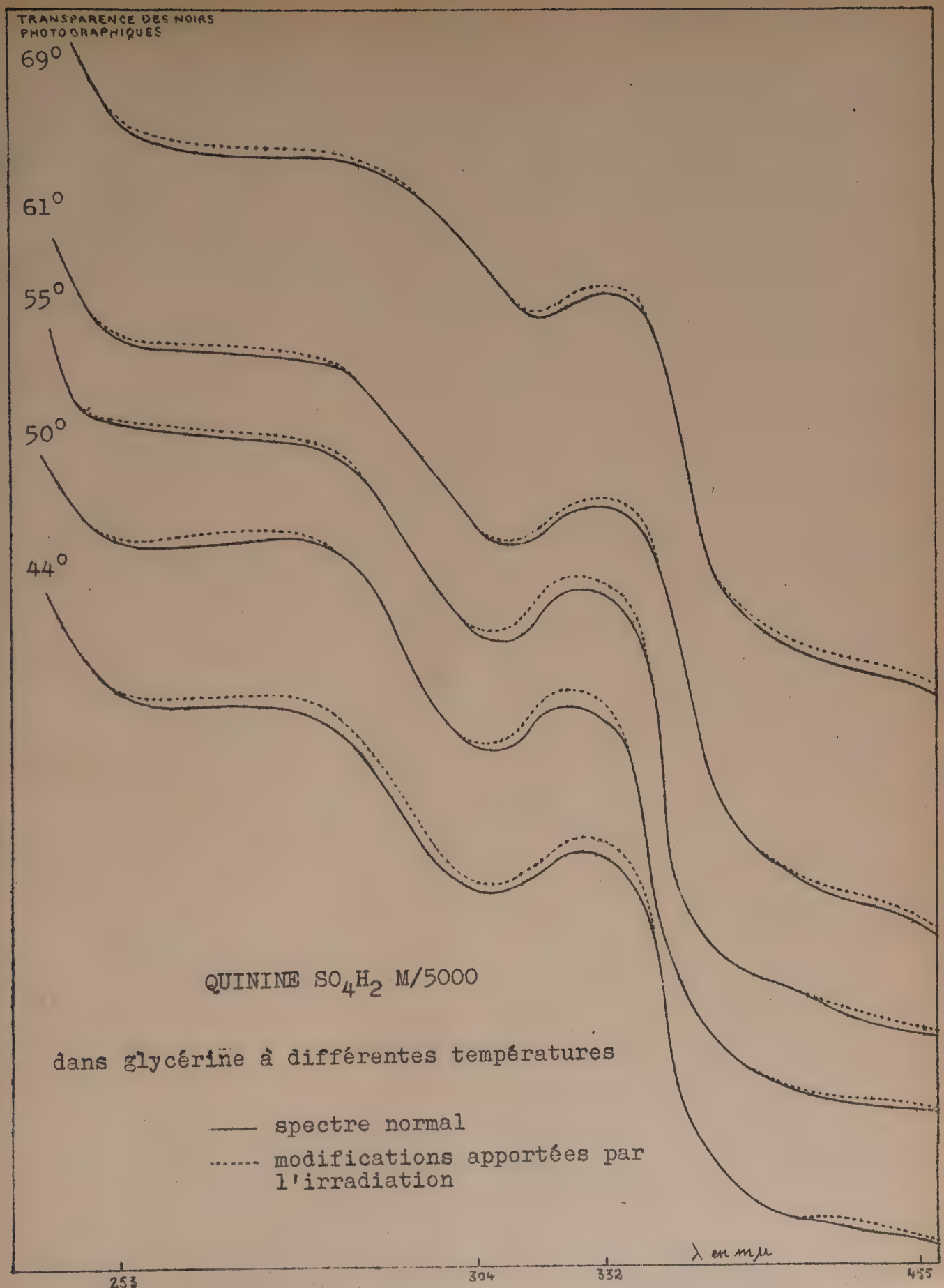
GRAPHIQUE 14.



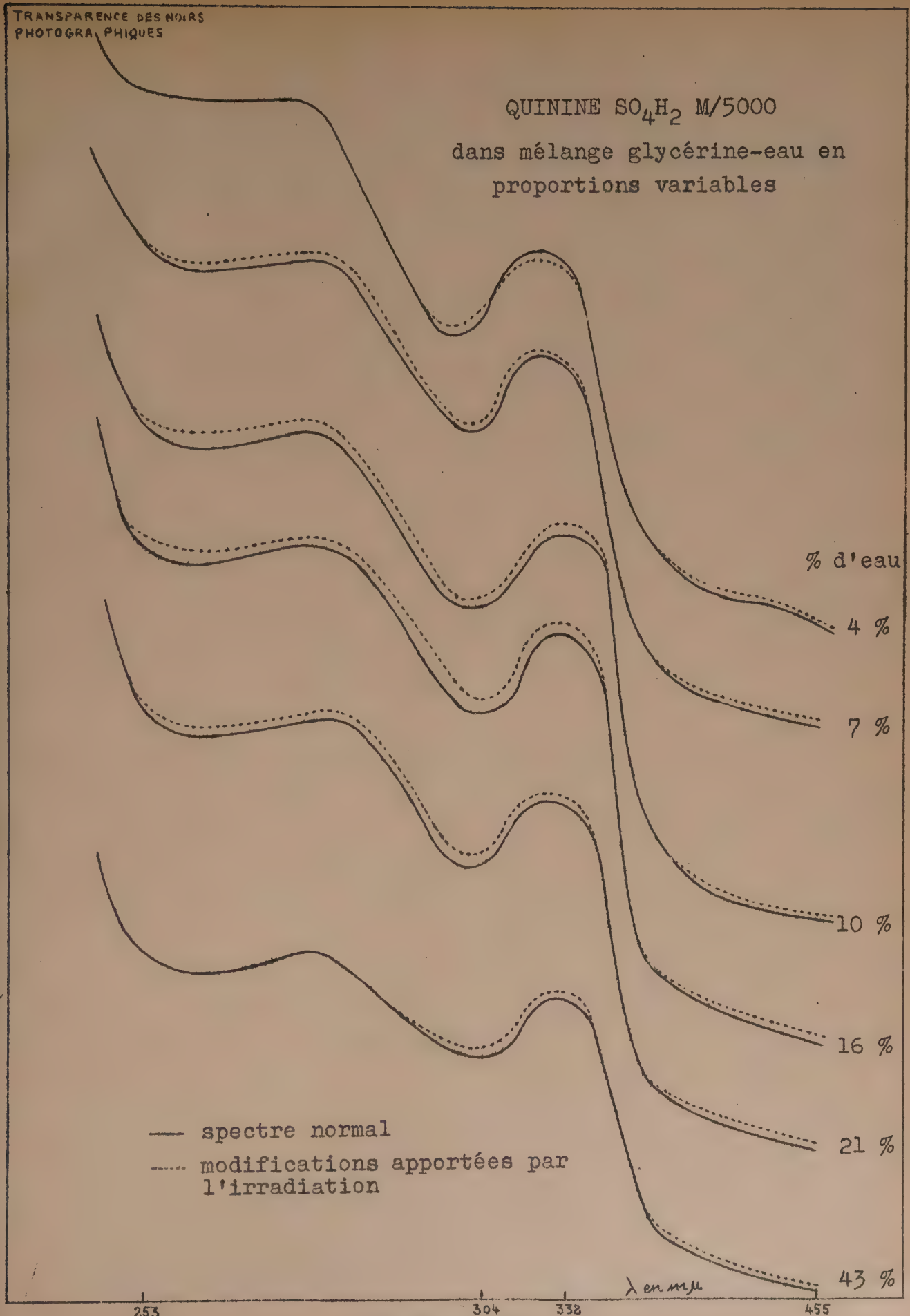
GRAPHIQUE 15.



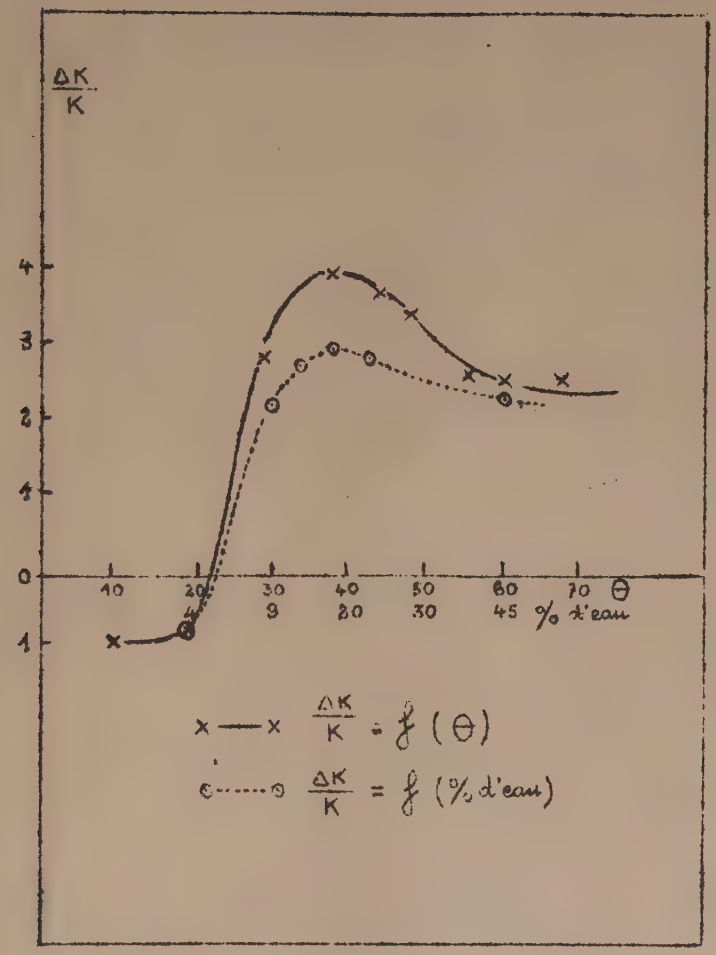
GRAPHIQUE 16.



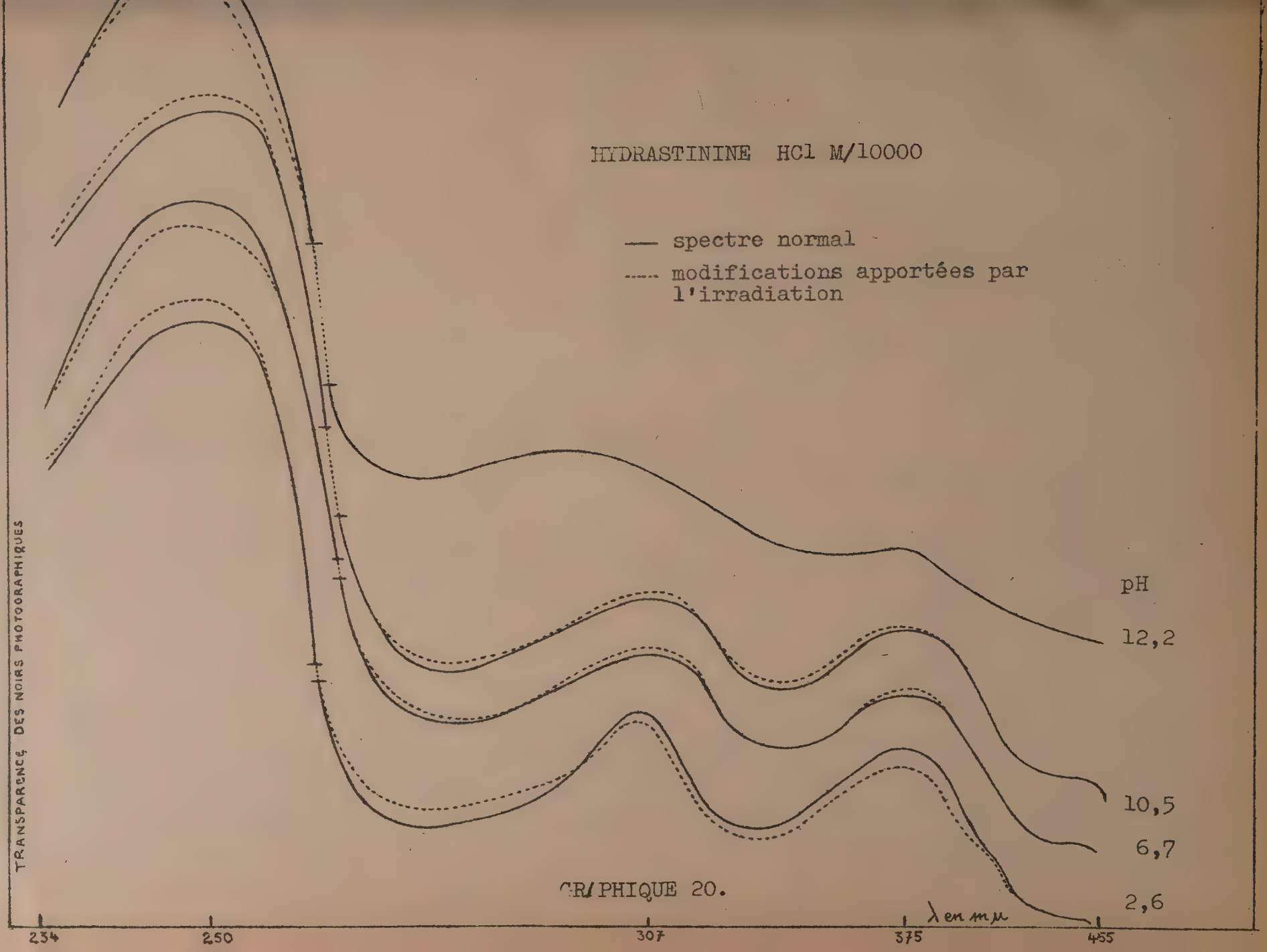
GRAPHIQUE 17.



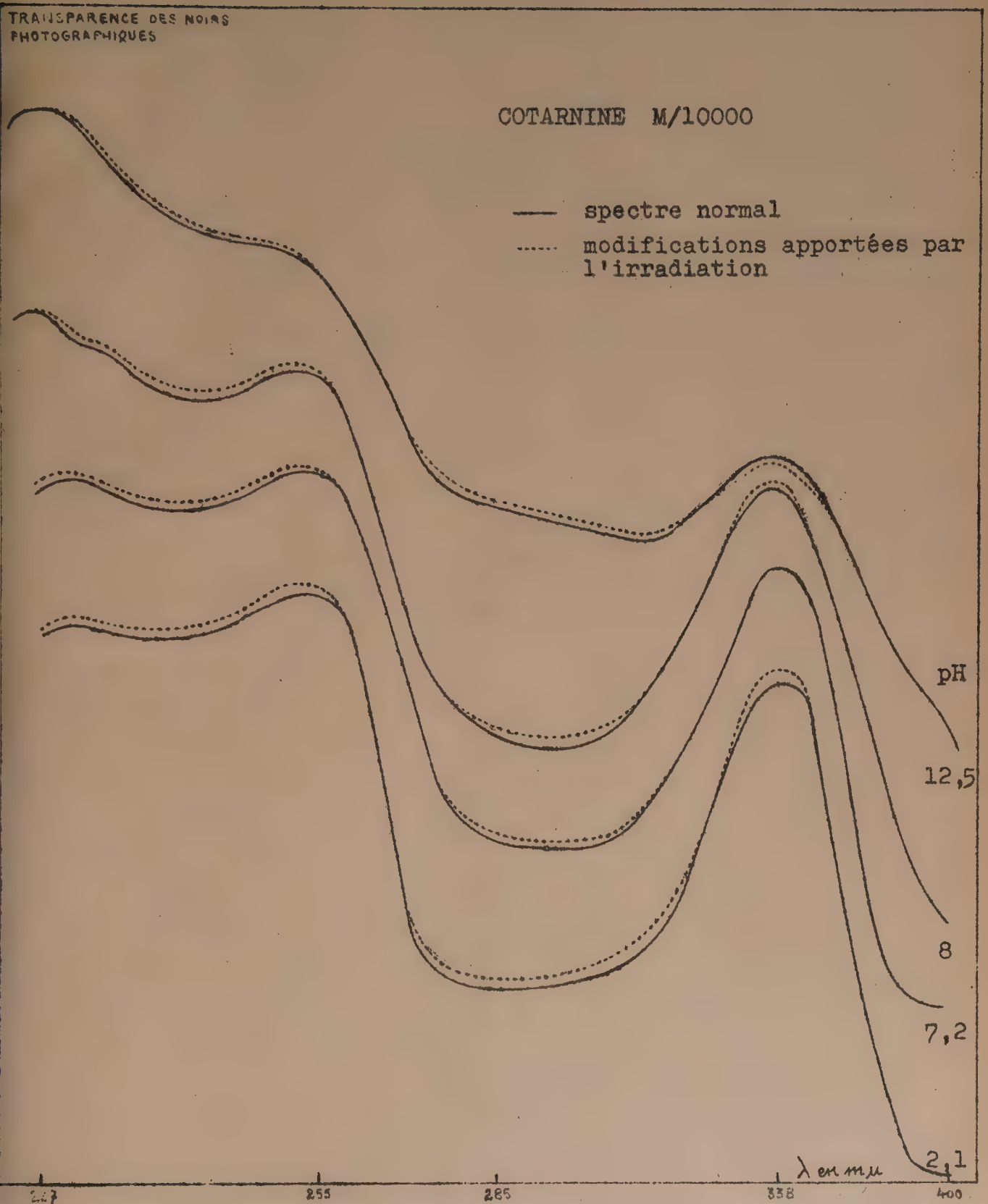
GRAPHIQUE 18.



GRAPHIQUE 19.



GRAPHIQUE 20.



GRAPHIQUE 21.

DEUXIEME THESE

Propositions données par la Faculté :

ACTIONS PHYSICO-CHIMIQUES DES ULTRASONS

Vu et approuvé :

Clermont-Ferrand, le 27 juin 1945

Le Doyen de la Faculté des Sciences

A.DANJON

Vu et permis d'imprimer :

Clermont-Ferrand, le 2 juillet 1945

Le Recteur de l'Académie de Strasbourg
Président du Conseil de l'Université,

Pour le Recteur,
le Vice-Président du Conseil de l'Université

André FORSTER

TABLE DES MATIERES

	Page
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	6
1er CHAPITRE.- Théories de l'absorption	6
2e CHAPITRE.- Spectres d'absorption ultra-violets de molécules en solution	14
3e CHAPITRE.- Théories de la fluorescence ...	18
4e CHAPITRE.- Absorption et fluorescence	25
5e CHAPITRE.- But du travail	29
DEUXIEME PARTIE : TECHNIQUES ET DISPOSITIFS.EXPERIMENTAUX	30
TROISIEME PARTIE : POSITION DU PROBLEME	43
1er CHAPITRE.- Choix des substances étudiées	43
2e CHAPITRE.- Résultats expérimentaux préliminaires	49
3e CHAPITRE.- Discussion des résultats	53
QUATRIEME PARTIE : FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES	58
1er CHAPITRE.- Influence du pH	58
2e CHAPITRE.- Influence du solvant	67
3e CHAPITRE.- Influence de la température ...	77
4e CHAPITRE.- Influence de la viscosité	82
CINQUIEME PARTIE : FACTEURS DE STRUCTURE	88
1er CHAPITRE.- Structure moléculaire	88
2e CHAPITRE.- Action des inhibiteurs	95
SIXIEME PARTIE : MODIFICATIONS DANS L'EXCITATION	102
SEPTIEME PARTIE : CONCLUSIONS	106
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	112
GRAPHIQUES	117